

**ESTUDIO CUANTITATIVO DE LAS INTERNEURONAS PARVOALBUMINA POSITIVAS EN
TRES REGIONES DEL TREN EVOLUTIVO ARQUICORTICAL: Implicaciones Funcionales**

Camilo Fajardo Peña

**CENTRO DE ESTUDIOS CEREBRALES
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS - FACULTAD DE SALUD
UNIVERSIDAD DEL VALLE
SANTIAGO DE CALI
2013**

**ESTUDIO CUANTITATIVO DE LAS INTERNEURONAS PARVOALBUMINA POSITIVAS EN
TRES REGIONES DEL TREN EVOLUTIVO ARQUICORTICAL: Implicaciones Funcionales**

Camilo Fajardo Peña

Código 0900627

Tesis de Maestría

Ciencias Biomédicas

Tutor:

HERNÁN J. PIMIENTA J. C.E.C

Asesoría

MARTHA I. ESCOBAR B. C.E.C

EFRAÍN BURITICÁ C.E.C

CENTRO DE ESTUDIOS CEREBRALES

ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS - FACULTAD DE SALUD

UNIVERSIDAD DEL VALLE

SANTIAGO DE CALI

2013

PÁGINA DE ACEPTACIÓN

DEDICATORIA

A mi familia, que siempre creyó en mí, que siempre me apoyó, aún en los momentos en que me encontraba derrotado.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea expresar sus agradecimientos a las siguientes personas:

- En primer lugar quiero agradecer al doctor Hernán Pimienta y a la doctora Martha Escobar quienes en el año de 2006, cuando era estudiante de pregrado, me dieron la oportunidad de conocer de cerca por primera vez el mundo de la investigación en neurociencias. Para mi han sido ejemplo no sólo a nivel profesional, sino un referente de vida, han marcado de manera importante lo que se y lo que soy.
- Al doctor Gabriel Arteaga, por ser una persona a quien debo tanto que cualquier palabra de agradecimiento quedaría corta.
- A Efrain Buriticá y a todos los miembros del Centro de Estudios Cerebrales que han aportado de manera directa en la realización de este trabajo y en mi formación profesional.
- A John Umbarila por sus valiosos aportes y colaboración a lo largo de todo el proceso investigativo.
- A Martha Ceballos y Nhora Holguín quienes brindaron un apoyo invaluable con todas las actividades del laboratorio.
- A todos los miembros del departamento de morfología y de la facultad de salud de la Universidad del Valle por su colaboración y apoyo
- Al instituto Nacional de Medicina Legal y ciencias Forenses, por su valioso aporte al proporcionar las muestras de tejido nervioso que fueron utilizadas en el presente trabajo.
- A todas las demás personas que contribuyeron con la realización de este trabajo

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN

1 MARCO DE REFRENCIA	3
1.1 Corteza Cerebral: Aspectos Evolutivos	3
1.1.1 Teoría De McLean	4
1.1.1.1 Formación proto reptiliana	5
1.1.1.2 Cerebro Paleomamífero	5
1.1.1.3 Cerebro Neomamífero	6
1.1.2 Teoría de Sánides	7
1.1.2.1 Tren paleocortical	7
1.1.2.2 Tren Arquicortical	7
1.1.3 Teoría de Marín Padilla	8
1.2 Anatomía de la corteza cerebral	9
1.2.1 Organización laminar	9
1.2.2 Organización columnar.	11
1.2.3. Componentes neuronales	12
1.2.3.1 Interneuronas.	12
1.2.3.2. Neuronas piramidales	15
1.3 Corteza Prefrontal	15
1.3.1 Superficie lateral de la corteza prefrontal.	16
1.3.2 Superficie medial de la corteza prefrontal.	18
1.3.3 Superficie orbital de la corteza.	19
1.4 Proteínas Atrapadoras De Calcio	20
1.4.1 Parvoalbumina	21

1.4.2 Parvoalbúmina en el tejido neuronal	21
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
2.1 Formulación del Problema	26
3 SISTEMA DE VARIABLES	27
4. OBJETIVOS	28
4.1 Objetivo General	28
4.2 Objetivos Específicos:	28
5. METODOLOGÍA.	29
5.1 Población y Muestra	29
5.1.2 Criterios de inclusión	29
5.1.3 Localización externa de las áreas corticales de interés para el estudio	30
5.2 Procedimiento	31
5.2.1 Preservación de Tejido.	31
5.2.2 Corte de Tejidos.	31
5.2.3 Inmunohistoquímica.	32
5.2.4 Procedimiento de registro.	33
6. RESULTADOS	35
6.1 Organización celular	35
6.2 Asimetrías	39
6.3 Diferencias Entre Áreas	45
6.4 Comparación de expresión infra y supragranular	50
7. DISCUSIÓN	53
7.1 Distribución De Las Interneuronas Inmunopositivas En La Corteza Prefrontal	53
7.2 Perspectivas de investigación	58
7.3 Consideraciones metodológicas	58

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

En el presente trabajo se quiso investigar la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en diferentes regiones prefrontales con la finalidad de establecer si existían diferencias relacionadas con el grado de diferenciación laminar.

Muestra: se obtuvo tejido cortical humano post mortem de tres regiones del tren evolutivo arquicortical: área 24, área 9 medial y área 46. Asimismo, se tomó como control el área 10 de la corteza, la cual corresponde con el nivel evolutivo más complejo del tren evolutivo paleocortical. Las muestras se recolectaron de un total 7 sujetos con edades de muerte promedio de 38,7 DE 8.7. *Procedimiento:* se fijó el tejido en paraformaldeído lisina periodato y posteriormente se realizaron cortes coronales de 50 micras, y se procedió la realización de protocolo estándar de inunohistoquímica para NeuN y para parvoalbúmina. Una vez finalizado el proceso de marcación se incluyeron las muestras en placas de vidrio para su posterior fotografía en microscopio óptico. Para el análisis se seleccionaron de manera aleatoria imágenes de 500 micras de ancho de cada una de las áreas a estudiar y con el programa Image J se realizaron conteos semi automáticos

Resultados: se observa un cambio en el patrón de organización de las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina conforme se avanza en el tren evolutivo arquicortical: El análisis de Varianza ANOVA permitió observar diferencias significativas ($P < 0,05$) en la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en las regiones prefrontales estudiadas, el análisis post hoc de Tukey indicó que el área 24 (Agranular) era la que menor número de células presentaba, mientras que la 46 y la 10, (Granular) eran las que mayor número de estas células presentaban. Resultados similares se observaron al realizar análisis por separado de las regiones supra e infragranulares. Igualmente se observó que además de existir un menor número de células en las regiones agranulares, había una menor diferenciación laminar de las mismas.

Discusión: las regiones prefrontales de mayor diferenciación laminar tienden a ser las dorsales y anteriores, las cuales funcionalmente se han relacionado con procesos cognitivos complejos, mientras tanto, las regiones mediales, de menor diferenciación laminar tienden a establecer más conexiones relacionadas con procesos emocionales. Relacionando los estudios comportamentales, con los resultados del presente trabajo, se plantea la hipótesis de que el desarrollo evolutivo de los procesos cognitivos está mediado por un aumento en la complejidad de los circuitos intracorticales, y que dicha complejidad es mediada de manera parcial por el poder inhibitorio de las neuronas candelabro y en cesta, las cuales son detectadas por medio de la presencia de parvoalbúmina.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las bases neuroanatómicas del comportamiento humano es una de las principales inquietudes de la ciencia. Para abordar dicha problemática se han establecido diversos tipos de estudios, dentro de los más representativos se encuentran 1) el análisis del comportamiento de animales que han recibido lesiones controladas, 2) el análisis de la actividad cerebral humana mientras realizan tareas cognitivas, 3) el estudio del comportamiento de pacientes con lesiones cerebrales y 4) el estudio anatómico de la organización del sistema nervioso por medio del análisis histológico, tanto de tejido proveniente de humanos como el de otros animales.

Dentro del marco de este último se encuentran los estudios de conectividad, que empleando los mecanismos de transporte activo de la célula permiten estudiar hacia que regiones proyecta una o un grupo de neuronas, así como también, desde que regiones corticales recibe aferencias una determinada zona. Este tipo de estudios implica la aplicación de un trazador cuando el animal se encuentra vivo y su posterior sacrificio, por lo que no resulta posible realizarlos en humanos. (Bentivoglio y Bertini 2002)

No obstante, en el sistema nervioso hay una relación entre la estructura y la función, y se ha podido evidenciar que es posible inferir los patrones de conectividad de una región cortical a partir del análisis de la microestructura (Barbas y Rempel-Clover 1997), por lo que la descripción detallada y sistemática de la estructura de las diversas regiones corticales en el humano puede validarse como un método plausible para el análisis de la conectividad de las mismas.

Dicho tipo de estudios no solo tienen importancia en términos de la conectividad, sino que pueden tener gran impacto sobre el entendimiento de los cambios subyacentes a las diversas alteraciones neurológicas y neuropsiquiátricas. Por ejemplo, el análisis post mortem del pacientes con autismo ha evidenciado cambios a nivel del espacio intercolumnar (M. Casanova et al 2006); en esquizofrenia hay alteraciones específicas en la expresión genética de poblaciones de interneuronas (Lewis, Hashimoto & Volk 2005); en estadios iniciales de demencia frontotemporal hay pérdida selectiva de las neuronas de Von Economo (Seeley et al 2006), las

cuales son un subtipo de neuronas piramidales modificadas implicadas posiblemente en el procesamiento emocional complejo (Allman et al 2005; Cauda et al 2012)

Asimismo, los estudios de la arquitectura cortical pueden ser empleados para la realización de estudios comparativos que permitan estudiar los cambios biológicos que acompañan el surgimiento de las nuevas habilidades cognitivas (Yates 2012)

Teniendo en cuenta los contextos mencionados previamente, el presente trabajo plantea abordar una parte de la problemática de la microestructura de la corteza prefrontal a través del análisis cuantitativo de la expresión de uno de sus componentes: las interneuronas que expresan parvoalbúmina.

El interés específico por este tipo de células en la corteza prefrontal obedece a que:

1) esta proteína está presente en una subpoblación de interneuronas corticales, las neuronas en candelabro y en cesta, las cuales se caracterizan por presentar un patrón de disparo rápido, establecer extensas conexiones eléctricas y químicas entre sí, y por ejercer un fuerte poder inhibitorio sobre las neuronas piramidales de láminas infra y supragranulares; estas características sumadas con pruebas experimentales en cultivos celulares organotípicos, ha permitido plantear que juegan un papel importante en el establecimiento de la sincronía de la actividad eléctrica de la corteza cerebral y por tanto en la actividad cognitiva compleja (Galarreta & Hestrin 2002; Massi et al 2012)

2) hay evidencia de alteración selectiva en la expresión de estas neuronas en patologías como esquizofrenia (Lewis, Hashimoto & Volk 2005) epilepsia (Takano 2012) y depresión (Khundakar, Morris, & Thomas 2011)

3) Hasta donde llega nuestro conocimiento, no existen estudios sistemáticos y cuantitativos que evalúen la manera en que estas neuronas se organizan diferencialmente en las diversas regiones corticales en el humano, conocer esto es de vital importancia si se tiene en cuenta la importancia de estas neuronas para la actividad cognitiva compleja.

4) Por último, tampoco hay estudios que evalúen la asimetría de la expresión de estas neuronas en el humano, su conocimiento podría ayudar a establecer correlación con la asimetría funcional observada en la corteza prefrontal humana.

En este sentido, el presente trabajo abordará dicha problemática desde una perspectiva evolutiva en la que se plantea evaluar los cambios en la expresión de neuronas inmunopositivas para parvoalbúmina en tres sectores del tren evolutivo arquicortical: un sector correspondiente con proisocortex agranular conformado por la región anterior del cíngulo (área 24 de Brodman), un sector de isocortex disgranular conformado por área 9 medial de Brodman y un isocortex granular eulaminado conformado por el área 46 de Brodman, así mismo se evaluará otro sector eulaminado (área 10 de Brodman) para establecer comparaciones con los sectores más desarrollados del otro tren evolutivo, el paleocortical.

Se espera poder relacionar los resultados del estudio con los conocimientos del rol funcional de cada una de estas áreas y de esta manera poder plantear hipótesis en cuanto a la manera en que estas neuronas intervienen en el funcionamiento de los circuitos corticales frontales del humano. Debido a la relación entre estas interneuronas y la actividad cognitiva compleja, es de gran interés evaluar la expresión de estas neuronas en la región cortical que se encuentra altamente ligada con dichos procesos, -la corteza prefrontal. Hasta donde llega nuestro conocimiento, no hay estudios que evalúen de manera sistemática y cuantitativa los patrones de expresión de las neuronas inmunoreactivas para parvoalbumina en la corteza prefrontal humana, en los estudios encontrados en la revisión literaria no se evalúa las diferencias entre diversas regiones neocorticales en el humano (Hof et al 1999), los estudios fueron hechos en primates no humanos (Dombrowski, Hilgetag & Barbas 2001) o fueron realizados únicamente en corteza temporal (Defelipe 1997)

1. MARCO DE REFERENCIA

1.1. Corteza Cerebral: *Aspectos Evolutivos.*

La corteza cerebral es una extensa capa de sustancia gris que constituye la superficie de los hemisferios cerebrales (Escobar y Pimienta 2003), para el caso de la especie humana, tiene un espesor que varía de 2 a 5 milímetros (von Economo y Koskinas, 1925) y un área que oscila entre 1469 cm² y 2275 cm² la cual se encuentra distribuida en una compleja red de giros y surcos lo que ocasiona que dos terceras partes de ella se encuentren sobre la superficie y que las dos terceras partes restantes se encuentran entre los pliegues formados por los surcos (Elias & Schwartz, 1969; Zilles, Armstrong, Schleicher, y Kretschmann 1988)

Es una de las estructuras más complejas del sistema nervioso, presenta gran heterogeneidad en cuanto al tipo de conexiones que establece, el tipo de células que la componen y la forma en que estas se encuentran organizadas. Esto ha permitido establecer diferentes subdivisiones de la misma, y generar mapas de su estructura (Campbell 1905; Smith 1907; Brodman 1909; Flechsig 1920; Economo y Koskinas 1925; Bailey y von Bonin 1951) los cuales se han realizado atendiendo a criterios de cito y mieloarquitectura, no obstante, se ha observado que las diferencias que han utilizado los anatomistas para la elaboración de sus mapas, se relacionan también con diferencias en cuanto a la conectividad y por tanto, a la función de las mismas, en palabras de Helen Barbas: *la estructura cortical predice el patrón de conectividad.* (Barbas y Rempel-Clover 1997)

El análisis de la estructura anatómica también ha sido de gran utilidad para el estudio de la evolución, no solo de la corteza cerebral, sino de las otras estructuras que componen el encéfalo (Murray, Wise & Rhodes 2011) Comprender la anatomía, las conexiones, el significado funcional de las mismas puede permitir llegar a una mejor comprensión de la función del sistema nervioso. A continuación se realizará una breve descripción de tres teorías que se tomarán como base en el análisis e interpretación de los resultados del presente estudio.

1.1.1. *Teoría de McLean*

Este autor establece una relación entre la aparición de diferentes modificaciones anatómicas y funcionales, y cambios en la arquitectura de las estructuras encefálicas que

permitieron entre otras cosas, emitir conductas más complejas y establecer comunicación sonora, especialmente la relacionada directamente con la supervivencia. Su teoría implica la existencia de una jerarquía de tres formaciones que fueron apareciendo progresivamente y que se rigen bajo los siguientes principios (McLean 1990):

- Las estructuras antiguas no desaparecen, sino que permanecen intactas o con limitadas modificaciones mientras que las más nuevas se ubican físicamente encima de las estructuras antiguas.
- Las estructuras recientes ejercen control sobre las estructuras antiguas.
- Las nuevas funciones comportamentales y cognitivas son controladas principalmente por las nuevas estructuras mientras que las funciones antiguas y menos complejas son controladas por las estructuras más antiguas.

1.1.1.1. Formación protoreptiliana.

Es un sistema primitivo, corresponde a estructuras que aparecieron aproximadamente hace 300 millones de años, durante el periodo Pérmico, al final del Paleozoico. Son desarrollos de los primeros y más antiguos miembros del orden de los saurópsidos denominados los cotilosaurios, dichas estructuras incluyen gran parte de la formación reticular, el tectum mesencefálico, los núcleos de la base y de la protuberancia, los núcleos inespecíficos del tálamo, el centromediano y el pulvinar. Una particularidad de la organización del cerebro protoreptiliano es que incluye agrupaciones neuronales a manera de núcleo, mientras que en las otras dos formaciones (paleomamífero y neomamífero) se evidencia una organización neuronal laminar. En términos comportamentales se ha relacionado con conductas propias de cada especie entre las que se encuentran: la selección del hogar, el establecimiento y la defensa del territorio, la cacería, el apareamiento y la formación de jerarquías sociales.

1.1.1.2. Cerebro paleomamífero.

Corresponde con el segundo tipo de formación descrita por Mc Lean, se le conoce con el nombre de cerebro límbico. Inicia su desarrollo durante el periodo triásico, cuando al parecer existió una ola de enfriamiento global que implicó la mutación de algunas especies de terápsidos, específicamente los cinodontes, quienes empezaron a desarrollar estructuras implicadas en la regulación endotérmica entre las que se encuentran la aparición de pelo, glándulas sudoríparas y

el calentamiento nasal del aire (J. Roth, E. Roth, MacLean & Hotton 1988) adicional a esto, se ha obtenido evidencia de aparición de otros cambios como la retención de los huevos por un mayor tiempo, y la aparición de la placentación.

Dichos cambios marcaron la pauta a una serie de transformaciones que incluyeron la aparición de glándulas mamarias, posibilidad de producción de sonidos y el cuidado de la cría por parte de la madre, lo cual es una característica de los mamíferos propiamente dichos

A nivel del encéfalo, con el surgimiento de los mamíferos, aparecen una serie de estructuras que no tienen los predecesores reptiles dentro de las que se encuentran el septum, la amígdala, el hipocampo, y el cíngulo entre otras, estas, se relacionarían con procesos emocionales como el cuidado parental, la conducta reproductiva, la huida ante el peligro y la conducta alimentaria. (MacLean 1990)

1.1.1.3. Cerebro neomamífero.

El último nivel de desarrollo involucra el desarrollo de la neocorteza, y es una característica propia de los grandes mamíferos, funcionalmente se relaciona con el desarrollo de habilidades cognitivas complejas, tales como aprendizaje, de representación del mundo, de abstracción y generalización, así como por la aparición de procesos emocionales más elaborados tales como la empatía o la cooperación.

Este tipo de cerebro alcanza la cúspide en los primates y con mayor nivel de complejidad en el cerebro humano, en donde los procesos de vocalización, antes regulados por el sistema límbico, empiezan a ser regulados por el sistema neocortical.

La teoría de MacLean es apoyada por los aportes de Brown, quien postula la existencia de un cuarto sistema denominado el cerebro simbólico, el cual se caracteriza la capacidad de crear y manejar una serie de representaciones abstractas, se encuentra presente únicamente en el humano y es producto de un desarrollo ontogenético (J. Casanova 2007)

Esta teoría ha tenido más impacto en el conocimiento popular y en la literatura de divulgación que en los círculos científicos, algunos consideran que no se debe tomar de manera literal, sino como una analogía solamente (Casanova J. 2007); ha recibido numerosas críticas, especialmente relacionadas con la existencia de zonas homólogas a las áreas neocorticales en

especies distintas a los mamíferos (lo cual no correspondería con el modelo) y a la simplificación de las observaciones conductuales, ignorando la complejidad de las relaciones sociales de algunas especies de aves y peces óseos de aletas radiadas (Butler y Hodos 2005) no obstante, en el presente trabajo se plantea que si los postulados de esta teoría son usados, no como un mecanismo para explicar la evolución del cerebro humano, sino como uno para describir los cambios progresivos que ocurrieron en la rama evolutiva que condujo a la aparición de la especie humana, se podrían tener datos significativos que permitieran comprender la complejidad de la organización estructural del sistema nervioso. En ese sentido, de la teoría del cerebro triunio (1960-1990) se resaltarían dos aspectos fundamentales:

- Las estructuras de aparición más reciente tienen un patrón más complejo que el de aparición más lejana.
- El nivel de complejidad, y de época de aparición de las estructuras tiene un significado funcional.

1.1.2. Teoría de Sánides

Durante la década de los setenta, apoyándose en estudios previos realizados por Dart (1934), Johnston (1915), Crosby (1917), Smith y Elliot (1907), y Abbie (1942), Friedrich Sanides realizó estudios comparativos en mamíferos, incluyendo primates y promulgó una teoría acerca del origen dual de la neocorteza, en la que señala que a partir de dos estructuras primitivas el hipocampo (arquicorteza) y la corteza olfatoria, en la región piriforme (paleocorteza) se originan dos trenes evolutivos caracterizados por un progresivo aumento y diferenciación de las láminas corticales, así como por una sub división de las mismas. (Sanides 1970) Cada una de estas tendencias evolutivas pasa inicialmente por unas fases llamadas perialocorteza y proisocorteza para culminar en la isocorteza propiamente dicha, en donde se puede evidenciar una organización neuronal a manera de seis láminas. Estos dos trenes presentan diferentes características en cuanto al curso de su evolución, su patrón de conectividad y su relación funcional. A continuación se explicarán algunas de las características más importantes de estos.

1.1.2.1 Tren Paleocortical

Como se mencionó previamente, en (este tren evolutivo está representado el bulbo olfatorio, la región retrobulbar, el tubérculo olfatorio y la corteza piriforme (Zilles 2004)) se

caracteriza por representar una serie de transformaciones que inician su proceso de evolución desde regiones orbitales y continúa en sentido ventral, ascendiendo hasta alcanzar la superficie lateral de los hemisferios cerebrales (Pimienta 2004)

Desde el punto de vista histológico, la corteza piriforme se caracteriza por la presencia de tres láminas: la más externa, denominada molecular, presenta muy pocas neuronas, una segunda denominada granular, está densamente poblada de interneuronas, y la tercera presenta una baja densidad neuronal, y está compuesta principalmente por neuronas piramidales de tamaño mediano y de formas variadas (Allison 1954, citado por Zilles 2004)

El tren paleocortical, inicia su desarrollo ventralmente en sentido caudal rostral a través de las áreas 13, 14, 15 y 16, las cuales se encuentran ubicadas en la región insular y se caracterizan por la presencia de cuatro láminas las cuales continúan su desarrollo en sentido lateral hasta alcanzar las regiones disgranulares compuestas por cinco láminas (proisocortex) y finalmente regiones granulares, compuestas por seis láminas propiamente dichas (Zilles 2004)

Funcionalmente se le ha relacionado con la identificación de detalles y la asociación de los mismos a un sistema de signos y símbolos, en lo que se conoce como la vía del *qué* (Ungerleider y Haxby 1994; Pimienta 2004)

1.1.2.2 Tren arquicortical

Esta tendencia evolutiva se origina en la región hipocampal y se desarrolla ascendiendo por la superficie medial, hasta alcanzar las regiones laterales de los hemisferios cerebrales, funcionalmente existe una coincidencia con el procesamiento espacial de la información y se le conoce con el nombre de la vía del *dónde* (Ungerleider et al 1982 citado por Pimienta 2004)

1.1.3 Teoría de Marin Padilla

Esta teoría establece varios postulados acerca de la evolución filogenética de la corteza cerebral en mamíferos, según estos, la “placa cortical es una innovación del mamífero y que representa un núcleo estratificado y expandible del telencéfalo formado dentro de la plexiforme

primordial” además, plantea que la neocorteza del mamífero es un sistema biológico capaz de expandirse incluyendo nuevos estratos, específicamente los piramidales (Marin-Padilla 1999)

Las tres teorías mencionadas previamente coinciden en un punto importante: postulan que la evolución ha dado como consecuencia una mayor diferenciación, y complejidad de las estructuras. A partir de este principio, y teniendo en cuenta este postulado no se explica necesariamente la evolución de todos los mamíferos (Butler y Hodos 2005) pero si describe la rama (de las muchas existentes en la evolución) que dio origen a la aparición del cerebro humano, permitiendo afirmar que el estudio de las diferencias, del nivel de complejidad, y de la estratificación neuronal en cada una de las regiones encefálicas, es de utilidad para llegar a una comprensión de la función cortical humana. Dicho planteamiento es fundamental en el contexto de la presente investigación.

Como parte de dicho elemento, es necesario primero hacer una breve descripción de las particularidades anatómicas y funcionales que presenta la corteza cerebral, haciendo un especial énfasis a la corteza prefrontal.

1.2 Anatomía De La Corteza Cerebral

La corteza cerebral, a pesar de su gran heterogeneidad, evidencia una serie de principios generales de organización los cuales determinan la forma en que se establecen los principales circuitos, así como las particularidades anatómicas de su estructura, uno de estos principios, hace referencia a la organización laminar, mientras que el otro a la organización columnar, a continuación se mencionará de manera muy general, algunos de los principios que subyacen a cada uno de estos tipos de organización.

1.2.1 Organización laminar

La lámina I molecular. Se caracteriza por presentar una baja densidad neuronal, resalta la presencia de neuronas horizontales de Cajal, las cuales son más abundantes en el desarrollo y se cree que juegan un papel importante en la orientación y ubicación postnatal de las neuronas

maduras (Valverde 2002). Hasta esta lámina se extienden las dendritas apicales de las neuronas piramidales de las capas II, III y V; también llegan las proyecciones inespecíficas del tálamo.

Lámina II capa granular externa. Se caracteriza por tener una alta densidad de interneuronas y neuronas piramidales de pequeño tamaño. Es el lugar al que llegan la mayoría de las proyecciones comisurales. En regiones de gran desarrollo laminar (isocorteza), es lugar de llegada de las conexiones asociativas, especialmente las que provienen de capas profundas de regiones de menor diferenciación laminar.

Lámina III, capa piramidal externa. Está constituida principalmente por neuronas piramidales de tamaño mediano cuyos axones descienden hasta abandonar la corteza cerebral estableciendo fibras de tipo asociativo que van a llegar hasta capas profundas de otras regiones corticales.

Lámina IV, capa granular interna. Está compuesta principalmente por neuronas estrelladas que presentan axón corto, el cual no abandona la corteza cerebral, estableciendo conexiones con neuronas de láminas vecinas, es el lugar de llegada de las conexiones específicas del tálamo. Adicionalmente, en su parte superior tiene fibras horizontales que constituyen la banda externa de Baillarger.

Lámina V, piramidal interna. Está compuesta por neuronas piramidales de gran tamaño, las cuales son responsables de la mayoría de las conexiones cortico subcorticales. En regiones corticales primitivas (alocortex, perialocortex y proisocortex) existen neuronas cuyos axones establecen conexiones asociativas que van a terminar en regiones supra granulares de regiones de mayor evolución (isocortex) en las regiones profundas de esta capa, en límites con la fusiforme se evidencia un segundo conjunto de fibras horizontales que constituyen la banda interna de Baillarger.

Lámina VI, multiforme. Constituida principalmente por células fusiformes y piramidales modificadas cuyos axones son perpendiculares a la superficie cortical los cuales descienden formando parte de la sustancia blanca subyacente hasta llegar principalmente al tálamo. En esta región se encuentran además algunas células de martinoti, cuyos axones ascienden hasta la lámina I y producen potenciales postsinápticos excitatorios sobre las dendritas apicales de neuronas piramidales de las láminas II, III y V.

1.2.2 Organización columnar

Lorente de Nó (1938) estableció que en la corteza cerebral existe un patrón vertical de organización compuesto principalmente por los arreglos dendríticos y los grupos axonales que se dirigen en sentido perpendicular a la superficie pial. El autor postuló este tipo de organización como unidad fundamental del funcionamiento de la corteza cerebral.

El correlato fisiológico de este tipo de organización fue posteriormente descrito por Mountcastle (1957; 1997; 2003), quién por medio del estudio de registro de actividad eléctrica neuronal en corteza sensorial en monos y en gatos observó patrones de disparo similares en unidades verticales que tenían un diámetro de 400µm a 500µm. Así mismo Hubel & Wiesel (1963; 1977) permitieron establecer las primeras pruebas anatómicas de este tipo de organización y su correspondencia con la actividad funcional, trabajo que les significó recibir el premio nobel de medicina en el año de 1981.

El modelo de organización columnar supone la existencia de dos tipos de niveles de organización vertical, las columnas corticales y las minicolumnas. Las primeras son formadas por aproximadamente 80 minicolumnas que se encuentran conectas entre ellas por medio de conexiones horizontales de corto alcance (Mountcastle 1997). Se ha planteado que la evolución de la corteza cerebral ha tenido como consecuencia un aumento en el número de columnas corticales, en vez de un aumento en el tamaño de las mismas (Rakic, 2003)

Por otro lado, las minicolumnas son unidades más pequeñas que las columnas, compuestas por alrededor de 80 neuronas y con un diámetro de alrededor de 50 micras (Mountcastle 2003), son un tipo de organización estructural común a la corteza cerebral de todos los mamíferos (Casanova y Tillquist, 2008) se caracteriza específicamente por presentar los siguientes elementos: un arreglo vertical compuesto por somas de neuronas piramidales y sus dendritas apicales, interneuronas de tipo inhibitorio alrededor del arreglo vertical piramidal, estableciendo control sobre la actividad neuronal del módulo, y un espacio alrededor, ocupado por axones colaterales, dendritas basales, células gliales y el sistema vascular (Casanova y Tillquist, 2008)

De acuerdo con los dos modelos de organización y con la teoría de Sánides acerca de la evolución de la neocorteza, lo que diferenciaría a los módulos corticales provenientes de regiones arquí y paleocorticales, de los presentes en las regiones neocorticales, sería la estratificación de los componentes verticales, específicamente los piramidales, habría una diferenciación y una especialización de la función de las unidades más que un aumento en el número de las mismas (Marin-Padilla 1999). De acuerdo con esto, son sus componentes los que le dan estructura a la mini columna y a las láminas corticales, así como la organización intrínseca de los mismos que dan cuenta de la evolución y estructura de las mismas.

Por tal motivo, y teniendo en cuenta que los principales componentes hacen referencia a dos tipos de neuronas, las piramidales y las no piramidales, a continuación se describirán las características y los tipos principales de estas.

1.2.3. Componentes neuronales

1.2.3.1 Interneuronas.

Las interneuronas representan del 20% al 30% del total de neuronas de la corteza cerebral y se caracterizan porque sus dendritas carecen de espinas, sus axones establecen circuitos intrínsecos que hacen contactos con neuronas dentro de una misma columna o columnas corticales vecinas, pero nunca abandonan la sustancia gris. Con la excepción de las neuronas espinosas estrelladas, que reciben los relevos sensoriales provenientes del tálamo (DeFelipe 1997), todas las interneuronas son de tipo inhibitorio y sus botones terminales liberan principalmente el neurotransmisor ácido gama amino butírico (GABA) (Jones 1984)

Las interneuronas se clasifican atendiendo principalmente a 3 criterios básicos: la trayectoria y punto de contacto del axón, la morfología del soma, y las propiedades bioquímicas. Actualmente no existe un consenso claro en cuanto a la clasificación final de las interneuronas, (DeFelipe 2002) sin embargo en el presente trabajo se tendrá como base, la clasificación que recoge Markram y sus colaboradores, (Markram et al 2004), la cual se basa en lo planteado por Jones (1984) y por DeFelipe (1992)

De acuerdo con esto, se identifican principalmente nueve tipos de interneuronas:

Neuronas bipolares: son células de soma ovalado y pequeño, con dos procesos dendríticos verticales, uno que se extiende hacia la superficie pial, alcanzando la lámina I y otro que se extiende hacia la sustancia blanca subyacente llegando hasta la lámina VI (Peters 1990) estas neuronas habitualmente generan sinapsis inhibitorias mediadas por GABA, aunque también pueden generar sinapsis excitatorias mediadas por polipéptidos (Peters 1990)

Células de Martinotti: estas células fueron inicialmente descritas por Martinotti en el año de 1889, y nombradas así por Santiago Ramón y Cajal en 1891. Las neuronas de este tipo se localizan de la lámina II a la VI de la corteza, aunque se encuentran con mayor frecuencia en las láminas más profundas. La mayoría de ellas presenta un soma con forma ovoide, dendritas en forma bifurcada, y un axón que asciende verticalmente hasta la lámina I estableciendo contactos sinápticos con las dendritas apicales de las neuronas piramidales y con las neuronas horizontales de Cajal, al parecer, algunos de estos axones se pueden extender horizontalmente ejerciendo control sobre columnas corticales vecinas (Wang et al 2004) es de resaltar que estas neuronas también establecen contactos sinápticos con neuronas de la lámina IV, pero establecen escasas conexiones con la lámina II III y V.

Estas neuronas son inmunoreactivas para somatostatina, así como para calbindina, calretinina y neuropéptido Y. No evidencian inmunoreactividad para parvoalbumina ni para el péptido vasoactivo intestinal (VIP) (Markram et al 2004)

Células de Cajal: este tipo de células fueron descritas inicialmente por Retzius y posteriormente descritas en detalle por Cajal (Meyer, Goffinet y Fairén 1999) son específicas de la lámina I y se encuentran con mayor abundancia durante el desarrollo, presentan un soma alargado, sus axones se extienden horizontalmente, abarcando grandes distancias dentro de la misma lámina. Estas células son inmunoreactivas para calretinina y para reeelina y no lo son para calbindina y parvoalbúmina.

Células de doble bouquet: este tipo de células presenta una morfología dendrítica bipolar, su característica distintiva es la presencia de un axón con múltiples colaterales que descienden verticalmente de manera paralela en un tipo de morfología que parece emular la cola de un caballo (horse tail) dichos axones atraviesan diferentes láminas de la corteza y establecen

contactos con las dendritas basales de neuronas piramidales. Anatómicamente se ubican en el espacio entre minicolumnas, por lo que se cree que su poder inhibitorio facilita la independencia de actividad entre minicolumnas vecinas (Ballesteros 2005)

Estas células son inmunoreactivas para calbindina y en menor medida para calretinina, pero no lo son para parvoalbúmina (Markram et al 2004)

Células bifurcadas: este tipo de neuronas presenta una morfología similar a las de doble bouquet, en términos de la morfología de su soma, y el curso de sus dendritas, sin embargo, se diferencia de estas en que su axón asciende en sentido vertical, estableciendo contactos con las dendritas de neuronas piramidales. Estas neuronas se encuentran en las láminas II a la VI, y presentan inmunoreactividad para calbindina y calretinina, pero no para parvoalbumina. (Markram et al 2004)

Células neurogliaformes: Corresponde a un tipo de morfología neuronal caracterizado por presentar un soma de tamaño pequeño con la presencia de múltiples dendritas cortas y delgadas que parten de su soma, forman un campo dendrítico, esférico y muy simétrico, el axón puede emerger de cualquier región del soma o de la base de alguna de sus dendritas, el cual se fragmenta en una densa arborización compuesta por un conjunto entrelazado de múltiples ramas axónicas ultra delgadas. Mańko, Bienvenu, Dalezios & Capogna (2012)

Células en candelabro: Este tipo de células se caracteriza por establecer contactos sinápticos de tipo inhibitorio con el segmento inicial del axón de las neuronas piramidales, en algunas ocasiones presentan una morfología bipolar, mientras que en otras una multipolar (Feldman y Peters (1978) la principal característica distintiva es su terminal axónico que presenta múltiples botones alineados en un arreglo vertical cuya longitud puede variar de 20 a 50 micras.

Se ha observado que la expresión de estas neuronas es más abundante en la corteza prefrontal, así como en el polo frontal (Inda, DeFelipe y Muñoz 2006) son inmunoreactivas tanto para calbindina como para parvoalbumina

Células en cesta: Las células en cesta se pueden dividir en tres grupos: pequeñas, en “nido” (Nest basket en inglés) y grandes. Este tipo de células constituyen en total el 50 por ciento de las interneuronas de la corteza cerebral; se caracterizan por establecer sinapsis inhibitorias con

el soma y el segmento proximal de las dendritas de las neuronas piramidales, lo cual, les brinda un papel muy importante en el proceso de regulación de la actividad de este tipo de neuronas. Al igual que las neuronas de tipo candelabro, estas neuronas se caracterizan por ser inmunoreactivas para calbindina y parvoalbúmina (Wang et al 2002)

Neuronas espinosas estrelladas. Presentan morfología estrellada, se caracterizan por poseer espinas dendríticas, son excitatorias y son el blanco principal de las aferencias talámicas específicas (da Costa 2012)

1.2.3.2. Neuronas piramidales

Este tipo de neurona es el más abundante en la corteza cerebral, representan del 70% al 80% del total (Jones 1984) en la neocorteza; las neuronas piramidales se distribuyen principalmente en las capas II, III, V y VI, se caracterizan básicamente por la presencia de la dendrita apical que asciende verticalmente hacia la superficie pial y varias dendritas basales que se extienden en sentido horizontal. La característica primordial de estas neuronas es que su axón abandona la sustancia gris formando parte de la sustancia blanca, donde posteriormente pueden tener varios destinos, tales como la medula espinal, los núcleos del tallo cerebral, los núcleos de la base, el tálamo y por supuesto, otras regiones de la corteza cerebral. Estas neuronas son de tipo excitatorio (DeFelipe y Farinas 1992)

1.3 Corteza Prefrontal

La corteza prefrontal se define a través de dos criterios básicos: las amplias conexiones con el núcleo dorsomediano del tálamo (Woolsey 1959), y el patrón de conexiones corticocorticales, el cual se caracteriza por un predominio de conexiones recíprocas con regiones asociativas y las pocas conexiones con regiones primarias (Pandya y Yeterian, 1996)

En los humanos esta región se encuentra rostral a la corteza premotora y comprende tres superficies: lateral, orbital y medial. La primera de ellas involucra las áreas corticales 8, 9, 10, 44, 45, 46 y 47/12 (Brodman 1905; Petrides y Pandya 2002) y se relaciona funcionalmente con la

realización de tareas cognitivas complejas como la memoria operativa, la resolución de problemas, la planificación de la conducta y la producción del lenguaje (Baddeley 2003; Fuster 2003) la segunda, la orbital, comprende las áreas corticales 10, 11, 12, 13 y 14; funcionalmente se relaciona con procesos emocionales complejos tales como el seguimiento de normas sociales (Clark y Manes 2004), el control de interferencia en tareas atencionales (Lhermitte et al., 1986), la modulación de los estados emocionales (Cotter et al 2005) y la toma de decisiones (H. Damasio, Grabowski, Frank, Galaburda. & A. Damasio , 1994; H. Damasio, Grabowski , Tranel, Hichwa , & A. Damasio, 1996). Por último, la región medial, involucra las áreas 24, 32, 8, 9 y 10 y se ha asociado más comúnmente con el monitoreo de la conducta, (Stuphorn, Taylor, & Schall, 2000) y con la comprensión de situaciones sociales complejas (Allman et al 2010; Seeley et al 2006)

1.3.1 Superficie lateral de la corteza prefrontal.

Esta región de la corteza cerebral se caracteriza por establecer conexiones reciprocas con la región parvocelular del núcleo dorsomediano del tálamo, el cual recibe influencias de otras regiones prefrontales así como de la sustancia negra reticulata. Esta región también recibe conexiones provenientes de otros núcleos talámicos como el ventrolateral, por medio del cual recibe aferencias motoras, provenientes del cerebelo y del globo pálido.

A nivel cortical, esta región presenta conexiones con:

- 1) El sector posterior de la corteza parietal (Petrides y Pandya 2009), la cual codifica tanto información de tipo visoespacial como el intervalo de tiempo entre eventos (León y Shadlen 2003)
- 2) La región de unión parieto temporo occipital (PTO) la cual corresponde con los giros angular y supramarginal (áreas de Brodmann 39 y 40) y se caracteriza por ser una región en la que converge información de tipo auditiva, visual y somatosensorial (Petrides y Pandya 2002). Las lesiones en esta región pueden generar una variedad de síndromes neuropsicológicos entre los que se encuentran, apraxia, afasia con anomia, afasia semántica, agnosia (Montañés y De Bigard 2005)

- 3) La corteza peririnal, (Petrides y Panya 1999) la cual funcionalmente se ha relacionado con la identificación de objetos.
- 4) El área somatosensorial secundaria (Petrides y Panya 1999) la cual recibe conexiones de la corteza somatosensorial primaria y se caracteriza por responder ante estimulación somatosensorial
- 5) el área premotora suplementaria (Wang et al 2002) y la porción rostral de la región posterior del giro cíngulo (Wang et al 2005) las cuales se relacionan con los movimientos de los segmentos proximales y distales de las extremidades superiores.
- 6) región anterior del giro cíngulo (Petrides y Panya 1999) la cual se relaciona funcionalmente con la valoración emocional de las acciones y la selección de estas en términos del valor emocional de las mismas (Walton et al 2007)
- 7) la corteza retrosplenial (Morris, Pandya & Petrides 1999), la cual establece conexiones con la región parahipocampal y el subículo. Debido a dichas conexiones, se cree que las proyecciones dorsolaterales a la corteza retrosplenial podría estar implicada en la evocación de memoria a largo plazo, así como en el uso de estrategias activas de codificación de la información para facilitar su consolidación (Vann, Aggleton, & Maguire 2009)

La corteza prefrontal establece conexiones con la porción dorsomediana del núcleo caudado, el cual a su vez, envía proyecciones a la región dorsomediana del globo pálido y la sustancia negra. Este circuito es completado con las proyecciones de estas estructuras hacia los núcleos ventral anterior y dorsomediano del tálamo, los cuales envían proyecciones directas hacia la corteza prefrontal nuevamente (Burruss et al 2000)

Las lesiones en esta región dan origen a una serie de síntomas que se conocen con el nombre de síndrome prefrontal lateral, el cual se caracteriza por alteraciones en la atención, específicamente en la atención selectiva y en la atención sostenida, así mismo se observan alteraciones en la capacidad de establecer metas y planes de acción enfocados a una meta. Si se produce alteración en las porciones del giro triangular y opercular, se evidencian alteraciones en la capacidad de producción del lenguaje.

1.3.2 Superficie medial de la corteza prefrontal.

Esta región de la corteza prefrontal establece conexiones con las porciones magnocelulares del núcleo dorsomediano del tálamo (Fuster 2008), las cuales reciben aferencias de la formación reticular mesencefálica, y varias estructuras del lóbulo temporal, entre las que se encuentran la amígdala, la corteza pre piriforme, y la corteza temporal inferior (Fuster 2008)

Esta porción de la corteza, también envía eferencias hacia los núcleos de la base, pero lo hace específicamente sobre la región ventromedial del núcleo caudado, la región ventral del putamen, el núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio, los cuales a su vez proyectan hacia las regiones rostromedial y ventral del globo pálido, quienes por último, envían eferencias hacia el núcleo dorsomediano del tálamo nuevamente, en donde como se había mencionado anteriormente, se proyectarán finalmente hacia la superficie medial de la corteza prefrontal (Burruss et al 2000)

A nivel cortical además de las conexiones con las áreas ubicadas en las otras superficies de la corteza prefrontal, se resaltan las conexiones con:

- El hipocampo y el subículo. Estas estructuras tienen múltiples conexiones recíprocas con las porciones límbicas y prelímbicas de la corteza prefrontal las cuales se establecen principalmente a través de la región anterior del giro cíngulo, así como de la porción medial del área 9 (Insausti y Muñoz 2001)
- Amígdala, esta estructura establece conexiones especialmente con las porciones agranulares de la corteza prefrontal medial, y con la región medial del área 13. Se cree que estas conexiones pueden estar implicadas en la emoción y la motivación, así como en la elección de conducta de acuerdo al nivel de recompensa. (Murray Wise & Rhodes 2011)
- Regiones premotoras. La gran mayoría de regiones de la superficie medial de la corteza prefrontal establece conexiones recíprocas con regiones premotoras, lo hace tanto de manera directa, como indirecta a través de la porción rostral de la región posterior del giro cíngulo y del área premotora suplementaria (Luppino , Rozzi , Calzavara, & Matelli 2003)

- Corteza peririnal, las conexiones con esta región se establecen principalmente por medio de la región anterior del giro cíngulo (Kondo, Saleem, & Price 2005)
- Polo temporal, las conexiones con el polo temporal no son tan prominentes como las que se presentan con regiones límbicas, sin embargo, la porción medial del área 10 establece conexiones recíprocas con dicha estructura (Kondo et al 2003)

A nivel subcortical, esta estructura establece también múltiples conexiones con el hipotálamo y la formación reticular (Barbas 2003) es posible que muchas de estas proyecciones tengan efectos sobre el funcionamiento del sistema nervioso autónomo.

De acuerdo a lo anterior, se observa como la porción medial de la corteza prefrontal, establece conexiones con regiones relacionadas con procesos emocionales y con el funcionamiento del sistema autónomo, esto se podría correlacionar con lo observado en pacientes con lesión en esta zona que da origen a un grupo de síntomas que se conocen con el nombre de síndrome prefrontal medial, consistente en una dificultad para iniciar movimientos de manos, ojos y pies, acompañado de dificultades en la atención y la movilidad corporal a través de mecanismos que no son del todo claros (Fuster 2008). Así mismo, los pacientes con lesiones en la región del cíngulo (áreas 24) presentan hipo quinesia o Aquinesia (J. Smith, V. Smith, Philbrick & Kumar 2012) y dificultades en el monitoreo de la conducta, (van Noordt, y Segalowitz 2012)

1.3.3 Superficie orbital de la corteza.

Esta región, de igual manera que la superficie medial de la corteza prefrontal, establece conexiones recíprocas con la porción magnocelular del núcleo dorsomediano del tálamo,

Así mismo, establece conexiones con el núcleo basolateral de la amígdala, especialmente, las regiones agranulares, aunque la parte granular del área 13 también establece conexiones con esta estructura (Carmichael y Price 1995)

Las regiones granulares de la corteza orbitofrontal reciben multitud de información olfativa, gustativa y visceral, así como también información visual proveniente de la región inferior del lóbulo temporal y de la corteza peririnal (Murray & Izquierdo 2007)

La información proveniente de las regiones somatosensoriales primarias y secundarias llega a la región orbitofrontal, especialmente al área 13, es de resaltar que la mayoría de la información que viaja por esta vía se relaciona con representaciones orofaciales y de la porción distal de las extremidades superiores (Carmichael y Price 1995)

Las lesiones en esta región dan origen a lo que se conoce con el nombre de síndrome prefrontal orbitofrontal, el cual se caracteriza por: 1) una alteración en los procesos atencionales, ocasionados posiblemente por dificultades en la inhibición de la interferencia de estímulos distractores (Beer, Scabini, y Knight 2006) 2) ecolalia y ecopraxia los cuales se podrían explicar a partir de una dificultad en el control de los impulsos (Lhermitte et al., 1986). 3) perseveración, la cual se define como dificultad para modificar estrategias de solución de problemas (Stuss et al 2000) 4) hipermovilidad, euforia, (Cummings, 1985) y en un alto porcentaje de los casos, también irritabilidad y paranoia (Whitehead et al 2012) y 5) desinhibición comportamental y alteraciones en el juicio moral (Ciaramelli, Muccioli, Làdavas y Pellegrino 2007) lo cual ocasiona que en muchos casos se confundan los síntomas de estos pacientes con la presencia de manía (Fuster 2008)

1.4 Proteínas Atrapadoras de Calcio

El calcio Ca^{+} es un ion fundamental para diferentes tipos de procesos vitales en el organismo, las proteínas que juegan un papel importante en regular los niveles de este son de gran importancia para mantener los procesos de homeóstasis del organismo. En el sistema nervioso, se ha resaltado el especial papel que juegan tres proteínas de la super familia EF-hand en este proceso, estas son: la Calbindina, la Calretinina y la Parvoalbúmina. Estas juegan un papel fundamental en la regulación del calcio intracelular aunque es posible que actúen de diferente manera (Schwaller Meyer & Schiffmann 2002) de hecho, se ha observado que estas proteínas se encuentran en diferentes poblaciones de interneuronas, por ejemplo la Calretinina se encuentra presente en las células Martinotti, Bipolares y Doble Bouquet, la Calbindina se encuentra en las células en candelabro, las células en Cesta, Martinotti, y las de Doble Boquet, la Parvoalbúmina resulta casi exclusiva de las neuronas Candelabro y en Cesta (Markram et al 2004) esta propiedad ha permitido utilizarla como un marcador neuronal de gran utilidad (Khundakar, Morris, & Thomas 2011; Lewis, Hashimoto, & Volk 2005)

1.4.1 Parvoalbumina

Las proteínas de la superfamilia EF-hand, de la cual hace parte la parvoalbúmina, juegan un papel importante en el mantenimiento de concentraciones de calcio intracelular necesarias para el funcionamiento normal de todos los procesos celulares. Es muy probable que las proteínas atrapadoras de calcio jueguen un papel determinante en muchos procesos celulares ya que se encuentran presentes en diferentes poblaciones de neuronas, tienen diversidad de distribución, además la coexistencia de diferentes tipos de estas proteínas atrapadoras como la parvoalbumina, la calbindina, la calretinina y proteínas S100 indican que ellas pueden estar involucradas en diferentes mecanismos regulatorios celulares, específicos de cada subtipo celular. (Schwaller 2010)

1.4.2 Parvoalbúmina en el tejido neuronal

La parvoalbúmina se encuentra en el cerebelo en las neuronas de la capa molecular y en las células de purkinje, en la corteza cerebral, se encuentra principalmente en interneuronas inhibitorias, específicamente en las neuronas candelabro y las células en cesta; dada la forma en que estas células establecen contactos sinápticos sobre el segmento inicial del axón y el soma neuronal respectivamente, es posible que influyeran las propiedades eléctricas y la maquinaria enzimática de las neuronas para modular la excitabilidad y la actividad neuronal. (Eggermann & Jonas 2012)

Esta proteína podría estar relacionada con el control de la efectividad de la actividad inhibitoria: Se ha encontrado que en las interneuronas inhibitorias de la corteza cerebral, se encuentra en altas concentraciones en el soma, en el axón y en las dendritas, allí actúa como un buffer lento de Ca^{2+} y afecta la amplitud y el curso temporal del calcio que ingresa como consecuencia de la llegada del potencial de acción al botón terminal, de esta manera puede regular procesos de plasticidad a corto plazo (Celio 1986) lo anterior es sustentado con estudios como el de Caillard y colaboradores (2000) quienes encontraron que cuando se realiza estimulación por pulsos pareados sobre sinapsis gabaérgicas entre interneuronas y células de purkinje en ratones control y ratones knockout para parvoalbúmina (PV^{-/-}) se generó una depotenciación en el grupo control, mientras que en el grupo knockout se produjo potenciación.

Adicional a lo anterior, cuando se agregó el buffer de calcio EGTA, la estimulación por pulsos pareados produjo igualmente depresión de la sinapsis en los ratones knockout.

Por otra parte, las interneuronas que expresan parvoalbúmina contribuyen a la generación y el mantenimiento de las oscilaciones gamma en el hipocampo, con la participación de la subunidad alfa de los receptores gabaérgicos (Baude y cols 2007), sincronizando la actividad cortical a través de sinapsis eléctricas. Adicionalmente, se ha observado parvoalbúmina en subpoblaciones de neuronas hiperactivas en términos metabólicos y eléctricos, así, tal como lo realiza en los músculos, la parvoalbúmina neuronal podría facilitar procesos de activación e inactivación neuronal (Heizmann y Celio 1987)

Por otro lado, se ha descrito que las sub poblaciones de neuronas gabaérgicas, inmunorreactivas para parvoalbúmina ayudan a mantener la estabilidad de los microcircuitos neuronales, las alteraciones en este proceso de regulación podrían relacionarse con una amplia serie de patologías neurológicas (Arif 2009)

A este respecto, tal vez la patología que más se ha estudiado con relación a la población neuronal inmunoreactiva para parvoalbúmina es la esquizofrenia, por ejemplo, se ha encontrado que en las láminas III y IV de la corteza prefrontal dorsolateral, los sujetos con esta patología presentan menor densidad de neuronas inmunopositivas para parvoalbúmina. (Lewis, Hashimoto & Volk 2005) Teniendo en cuenta el papel de estas con relación al establecimiento de oscilaciones gamma (Sohal, Zhang, Yizhar, & Deisseroth 2009) se podría relacionar estos cambios, con los cambios en las oscilaciones gamma observados en dichos pacientes (Lewis, Curley, Glausier, & Volk, 2012)

Con relación a la epilepsia, también se han encontrado cambios significativos en la expresión de esta proteína, por ejemplo DeFelipe (1999) encontró una disminución significativa en las neuronas de tipo candelabro en epilepsia del lóbulo temporal. Así mismo, Schwaller y cols (2004) pusieron a prueba un modelo de epilepsia inducida por pentilentetrazol en un grupo de ratones knockout para parvoalbúmina PV^{-/-}, encontraron que aunque este fármaco inducía epilepsia, tanto en ratones normales como en los PV^{-/-}, las descargas fueron más fuertes en los ratones knockout, así mismo, encontraron mayor nivel de actividad sincrónica en dichas

neuronas. Los autores plantearon así que la parvoalbúmina podría jugar un papel en la regulación del control inhibitorio que ejercen las neuronas gabaérgicas sobre las neuronas piramidales.

En un modelo experimental de polimicrogria, (la cual se caracteriza por generar epilepsia en un número considerable de pacientes que la sufren) se encontró también una disminución de estas neuronas, lo que podría sustentar el papel de dicha sub población de interneuronas en la regulación de la actividad excitatoria de las neuronas piramidales (Takano 2012)

Esto también se observa en otras patologías en las que se rompe el balance de la actividad excitatoria e inhibitoria: por ejemplo, para el caso de la enfermedad priónica conocida como Scrapie se ha observado alteración en la expresión de parvoalbúmina, tanto en estudios post mortem (Sisó y cols 2011), como en modelos experimentales de esta enfermedad (Voigtländer y cols 2008) Un efecto similar fue observado en modelos con ratones que intentan reproducir condiciones de alteración en el desarrollo tales como el síndrome de Angelman o el síndrome de alcoholismo fetal (Gustin et al 2010)

Su papel en la regulación de la actividad neuronal se extiende también al cerebelo, en donde la ausencia de parvoalbúmina y de calbindina produce pérdida de la regulación de la velocidad de disparo de las células de purkinje, así como de su ritmo. La frecuencia de oscilación de las células de ratones knockout, para parvoalbúmina y para calbindina sugiere que el control transitorio que ejercen estas proteínas es indispensable para mantener el patrón típico de disparo asincrónico que presentan estas neuronas (Eggermann 2012)

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo a lo la revisión bibliográfica, la presente investigación se plantea considerando las siguientes afirmaciones:

La evolución del cerebro humano ha ocurrido en un sentido medio lateral y caudal rostral, las estructuras ubicadas en la región anterior y dorsal, son las últimas que han aparecido.

Uno de los mecanismos que permiten dar cuenta de la evolución de la corteza cerebral es el grado de diferenciación laminar.

El patrón de organización neuronal puede predecir el patrón de las conexiones corticocorticales así (Barbas y Rempel 1997):

- En áreas con una alta diferenciación laminar, las conexiones corticocorticales provenientes de un área de alta diferenciación laminar a una de baja provienen de las láminas 2 y 3 mientras que las que provienen de una de baja diferenciación laminar a una de alta, provienen principalmente de las láminas 5 y 6.
- En áreas con una baja diferenciación laminar las conexiones que provienen de un área de mayor diferenciación laminar a una de baja, provienen de las láminas 2, 3, y en menor proporción, de sectores superficiales de la lámina 5, mientras que las que provienen de áreas de baja diferenciación laminar y tienen como destino, áreas corticales de alta diferenciación laminar, provienen principalmente de láminas 5, 6, y en menor proporción de sectores profundos de la lámina 3.

Las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en la corteza cerebral son principalmente las células candelabro y en cesta, las cuales ejercen un fuerte poder inhibitorio sobre la actividad de neuronas piramidales.

Las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina juegan un papel importante en el establecimiento de ritmos corticales a través de descargas sincrónicas, mediadas por sinápsis eléctricas.

Se ha observado que la alteración en la expresión de las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina está relacionada con alteraciones en la actividad cortical, que dependiendo de la zona alterada, podría relacionarse con patologías como epilepsia o esquizofrenia.

En la revisión de la literatura realizada, no se encontraron estudios que comparen la organización laminar de la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en regiones prefrontales humanas en sujetos normales.

Se tiene conocimiento que para el caso de los primates no humanos, las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina presentan mayor diferenciación y segregación en regiones de alta diferenciación laminar.

No existen reportes que evalúen la asimetría de estas neuronas en las áreas corticales a estudiar.

No existen estudios que evalúen el patrón de organización de las neuronas en las estructuras a evaluar.

El conocer dicha información sería de gran utilidad debido a las siguientes razones:

- Conocer asimetrías microestructurales en la expresión de estas neuronas podría permitir plantear modelos que expliquen las asimetrías funcionales observadas en las áreas corticales a estudiar, así como plantear diferencias de conectividad de los dos hemisferios
- Describir el patrón de organización del principal sistema inhibitorio de la corteza cerebral, permitiría comprender de una mejor manera la forma en se encuentran organizados los circuitos corticales implicados en la actividad cognitiva de alto nivel.
- Comprender el patrón de organización de las neuronas en dicha área podría establecer un punto de referencia para evaluar si existen o no cambios en la expresión de las mismas en condiciones patológicas.

2.1 Formulación del Problema

Atendiendo a lo anterior, se plantean las siguientes preguntas de investigación

1. ¿Cuál es la distribución que presentan de las neuronas positivas para Parvoalbumina en el tren evolutivo arquicortical?
2. ¿Existen diferencias en cuanto al patrón de organización de las neuronas inmunoreactivas que se puedan correlacionar con un aumento en la diferenciación laminar?

3 SISTEMA DE VARIABLES

Las variables empleadas en la presente investigación se describen de acuerdo a la tabla 1.

Tabla 1

Sistema De Variables empleado en la investigación

VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADOR	NIVEL DE MEDICIÓN
Personales	Edad	Años de edad cronológica (indicado por el patólogo de medicina legal)	escalar
	Sexo	Sexo del sujeto reportado en medicina legal.	Nominal (dicotómica)
	Patología psiquiátrica	Reporte de alteración psiquiátrica	Nominal (dicotómica) Presencia/ausencia
Conservación del tejido	Intervalo post mortem	Número de horas desde el fallecimiento hasta la fijación del tejido	Escalar
	Calidad de la marcación	Registro cualitativo de la marcación	Nominal (Dicotómica) apropiada marcación/ marcación deficiente
	Inmunohistoquímica	Tipo de marcador utilizado	Nominal (dicotómica) NeuN/parvoalbúmina
Organización neuronal	Densidades neuronales	Número total de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina	Escalar
		Número de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en capas infra granulares	Escalar
		Número de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en capas supra granulares	Escalar
	Organización	Patrón de distribución de neuronas detectado del análisis automático de la distribución de neuronas en un plano de coordenadas X y Y	nominal
Región de la corteza cerebral	Área cortical	Área cortical seleccionada	Nominal: 9, 10, 24 o 46

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Describir el patrón de organización de las células inmunorreactivas para parvoalbúmina en la corteza prefrontal humana a lo largo de tres regiones del tren evolutivo arquicortical.

4.2 Objetivos Específicos:

- Describir el patrón de organización laminar de las subpoblaciones neuronales inmunorreactivas para Parvoalbúmina.
- Indagar acerca de posibles asimetrías en cuanto a la organización de estas neuronas.
- Comparar la organización neuronal de neuronas inmunorreactivas para Parvoalbúmina en las diferentes regiones prefrontales evaluadas (áreas 9, 46 y 24 de Brodman)

5. METODOLOGÍA.

5.1 Población y Muestra

Para el análisis se obtendrán muestras de tejido cortical humano post mortem de tres regiones del tren evolutivo arquicortical: una región de proisocortex agranular, área 24; una región de neocorteza disgranular, área 9 medial; y una región de neocorteza granular eulaminada, área 46. Asimismo, se tomará como control el área 10 de la corteza, la cual corresponde con el nivel evolutivo más complejo del tren evolutivo paleocortical. Todas las muestras se obtuvieron a partir del proyecto, “Caracterización de la corteza prefrontal humana” el cual tiene aprobación por el comité de ética de la Universidad del Valle

La muestra consistió en 7 sujetos con edades promedio de 38,7 DE 8.7 (Ver tabla 2) y un intervalo post mortem de 9,2 horas DE 2,8 tomados de muestras recolectadas para la línea de investigación “Caracterización de la Corteza Prefrontal en Sujetos Humanos”. Las muestras incluidas no tenían historia de enfermedades neurológicas, ni psiquiátricas y no presentaron signos de trauma o edema cerebral, según los protocolos presentados por los patólogos de medicina legal de las regionales de Cali y de Bogotá (lugares de donde proceden las muestras). El tejido se obtuvo, de las áreas corticales 9, 10, 24 y 46 atendiendo a los diversos criterios citoarquitectónicos

5.1.2 Criterios de inclusión

Además de los datos de los protocolos diligenciados por los patólogos en la sala de necropsias, se realizó un segundo análisis del material histológico resultante luego del tratamiento inmunohistoquímico.

Se comparó la inmunoreactividad de cada sujeto con los resultados mostrados en estudios similares realizados tanto en otras áreas corticales como en otros mamíferos y también se tomaron como referencia algunos procedimientos preliminares de este trabajo. De acuerdo a lo anterior se excluyó el material en los que la reactividad se notó alterada.

Por otra parte, se estableció como inclusión las edades entre 18 y 55 años, esto porque los estudios de cambios estructurales relacionados con la edad demostraron que dicho 63 periodo es el más estable (Jacobs, Driscoll & Schall, 1997; Lewis, Cruz, Eggen & Erickson, 2004). Todos los sujetos incluidos son del género masculino, dado que la cantidad de personas fallecidas que ingresan a medicina legal pertenecientes al género femenino es extremadamente bajo, lo que imposibilitó una muestra representativa (ver tabla 2).

Con base en los criterios expuestos con anterioridad se seleccionaron las muestras, las cuales fueron consideradas según todos los análisis como muestras de individuos “normales”, sin embargo, el término normal en este estudio se presenta en cursiva y entre comillas para resaltar que no se tiene la certeza absoluta de normalidad, puesto que toda la información de los sujetos incluidos se obtuvo de manera retrospectiva, y por razones obvias no se pudo realizar una evaluación del funcionamiento neurológico de cada sujeto.

Tabla 2. Características De La Muestra

SS	CÓDIGO	SEXO	EDAD	CAUSA DE MUERTE	IPM*
1	C11	M	26	LESIÓN EN EL CUELLO POR ARMA DE FUEGO	11 HORAS
2	C16	M	35	LESIÓN EN TORAX Y CUELLO POR ARMA DE FUEGO	8 HORAS
3	C13	M	37	LESIÓN EN EL TORAX POR ARMA BLANCA	7 HORAS
4	C10	M	47	TRAUMA CONTUSO HEPÁTICO	11 HORAS
5	C14	M	47	LESIONES EN CUELLO POR ARMA DE FUEGO	14 HORAS
6	C15	M	31	HERIDAS EN TORAX Y ABDOMEN POR ARMA DE FUEGO	8 HORAS
7	C17	M	48	LESIONES EN TORAX POR ARMA BLANCA	6 HORAS

*Intervalo post mortem

5.1.3 Localización externa de las áreas corticales de interés para el estudio

El sector dorsal de la parte anterior del giro frontal superior (área 9), la zona orbital del polo frontal (área 10), la región anterior del giro cíngulo (área 24) y el punto donde inicia el segundo tercio del giro frontal medio (área 46), se tomaron como áreas de interés de la corteza prefrontal para el presente estudio, su localización se realizó con base en la subdivisión

arquitectónica establecida por Rajkowska & Goldman-Rakic (1995); Petrides & Pandya (1999) para la superficie lateral y Öngür et al., (2003) para la región orbitomedial.

Teniendo como referencia los mapas arquitectónicos antes mencionados se ubicaron los sectores centrales de cada área según las características de cada individuo para no transgredir los límites de cada área citoarquitectónica. Se tuvieron en cuenta los mismos parámetros para tomar las muestras en los dos hemisferios cerebrales de cada sujeto. Coronalmente, se removió la muestra sobre el giro, es decir, en la parte externa o corona del giro conservando parte de sustancia blanca; se obtuvo un bloque de aproximadamente 1cm³, liberando el tejido de las meninges.

5.2 Procedimiento

5.2.1 *Preservación de Tejido.*

Inmediatamente obtenidas las muestras, se lavaron durante 10 minutos en solución salina al 10%, con el propósito de eliminar los excesos de sangre y otros agregados. A continuación, las muestras fueron depositadas en recipientes individuales con PLP2, ph de 7.4, para la fijación del tejido. Las muestras así tratadas, se mantuvieron en refrigeración a 4°C durante un período de 6 - 8 días.

5.2.2 *Corte de Tejidos.*

Se realizaron cortes de 50 micras de espesor, perpendiculares a la superficie pial, utilizando un vibrátomo Lancer Vibratome series 1000®. Los primeros cortes se utilizaron como prueba piloto, aplicándoles una tinción rápida con azul de toluidina, para observar la integridad del tejido y la orientación del corte; se tuvo como criterio para este último, que las dendritas apicales de las células piramidales fueran visibles en toda su trayectoria, hasta alcanzar la capa I de la corteza cerebral.

5.2.3 Inmunohistoquímica.

Los procedimientos de inmunohistoquímica se llevaron a cabo utilizando el "Sistema ABC" de inmunoperoxidasa (Vectastain®). Después de cortados los tejidos se sumergieron en una solución de metanol al 30% y peróxido de Hidrógeno al 0,3%, durante 10 minutos, para eliminar la sangre que pueda estar todavía presente en el tejido. Seguidamente, se lavaron tres veces con Buffer Fosfato Salino (PBS), durante cinco minutos cada una de los lavados.

Posteriormente, los tejidos fueron tratados con suero de bloqueo normal de caballo (Vectastain Elite ABC, Vector Laboratorios ®) al 1,5 % en PBS durante 40 minutos, con el propósito de prevenir reacciones con peroxidasa endógena o la unión electrostática con otras proteínas. Terminado este procedimiento, se llevó a cabo la reacción con los anticuerpos primarios, durante un período de incubación de 18 horas. Se utilizaron controles siguiendo el mismo protocolo previamente descrito, con excepción de la utilización del anticuerpo primario. Las diluciones de los anticuerpos se realizaron en PBS con Tritón al 0,5%, en proporciones específicas para cada uno como se indica la tabla 3

Tabla 3. Diluciones de los anticuerpos primarios utilizados en el estudio

Anticuerpo	Dilución	Laboratorio
Neu-N	1: 2500	Chemicon Internacional®
Parvalbúmina	1: 5000	Chemicon Internacional®

Una vez concluido el período de incubación de los anticuerpos primarios, se procedió a la realización de tres lavados con PBS, por cinco minutos cada uno. Posterior al lavado, se trataron los tejidos con anticuerpos secundarios biotinilados, utilizando el sistema de "Avidina-Biotina" (Vectastain Elite ABC ®), procedente de ratón (Laboratorios Vector ®); las secciones fueron expuestas por 40 minutos a estos anticuerpos, diluidos en PBS en proporción 1: 1200. Todos los procedimientos se realizan a temperatura ambiente.

Concluidas las reacciones previamente descritas, se reveló la peroxidasa mediante cromógeno DAB (Diaminobencidina) al 4 %, peróxido de hidrógeno al 2 % y níquel al 2 %, en

PBS por 10 minutos. El material así procesado, se montó sobre placas de vidrio “cromoaluminado”. Posteriormente, estas placas una vez se secaron a temperatura ambiente, se lavaron en agua destilada y se deshidrataron progresivamente, mediante exposición a soluciones de alcohol en diferentes concentraciones y a inmersiones sucesivas en Xilol. Finalmente, el tejido fue cubierto con una resina sintética: Permout ®, mediante la cual se adhieren las laminillas cubreobjetos.

5.2.4 Procedimiento de registro.

Se tomaron fotografías digitales del tejido procesado por medio de una cámara modelo Cannon Power Shot A95®, con resolución de 6 mega píxeles, adaptada al microscopio de luz (Olympus CH-2 Optical modelo CHS®), con lente objetivo de 10x. Las medidas se calibraron a partir de una placa con distancias predeterminadas tipo A MBM11100 Stage micrometer objective NIKON de 1mm con 10 subdivisiones de 100 micras cada una, se toman fotografías en el microscopio de luz Olympus CH-2 por 10 aumentos y un zoom a 4x de la cámara. Todas las microfotografías se almacenaron en formato JPEG con una resolución de 1600 x 1200 píxeles por microfotografía.

Se realizaron fotografías de manera consecutiva, para cubrir el espesor completo de la corteza cerebral; posteriormente se fusionaron digitalmente con el programa Cannon Photo Stitch versión 3.1 2000®. La fusión de estos campos parciales consecutivos, permite producir imágenes completas de la corteza cerebral, sobre las cuales se realizó conteo semi-automático de células marcadas, así como otras mediciones pertinentes, utilizando el programa “Imaje J” ® este programa, desarrollado por el Instituto Nacional de Salud de los estados Unidos, permite transformar la información contenida en las imágenes en datos cuantitativos, por medio de los métodos de conteo y las medidas de distancia y de área, entre otras (Collings 2007) Para la calibración de las medidas de distancia se utilizó una placa con graduación predeterminada, tipo A MBM11100 Stage micrometer objective NIKON ® de 1mm, con 10 subdivisiones de 100 micras cada una.

De cada sujeto, se realizaron tres (3) registros fotográficos completos de toda la corteza, para todas las medidas: (anticuerpo) x (área) x (hemisferio cerebral), de forma tal que los valores correspondientes a cada uno, serán valores promedio de los tres registros considerados.

Utilizando el programa Image J®, se midió el espesor total de la corteza cerebral de las imágenes ya fusionadas, así como el espesor de cada una de las láminas corticales, en las muestras marcadas mediante NeuN. Los valores obtenidos de este conteo fueron utilizados como punto de referencia para valorar los cambios en la densidad de neuronas inmunoreactivas para parvoalbúmina, así como para establecer el patrón de distribución de las mismas a lo largo de la corteza cerebral.

6. RESULTADOS

6.1 Organización celular

Organización neuronal en el área 9 de la corteza prefrontal

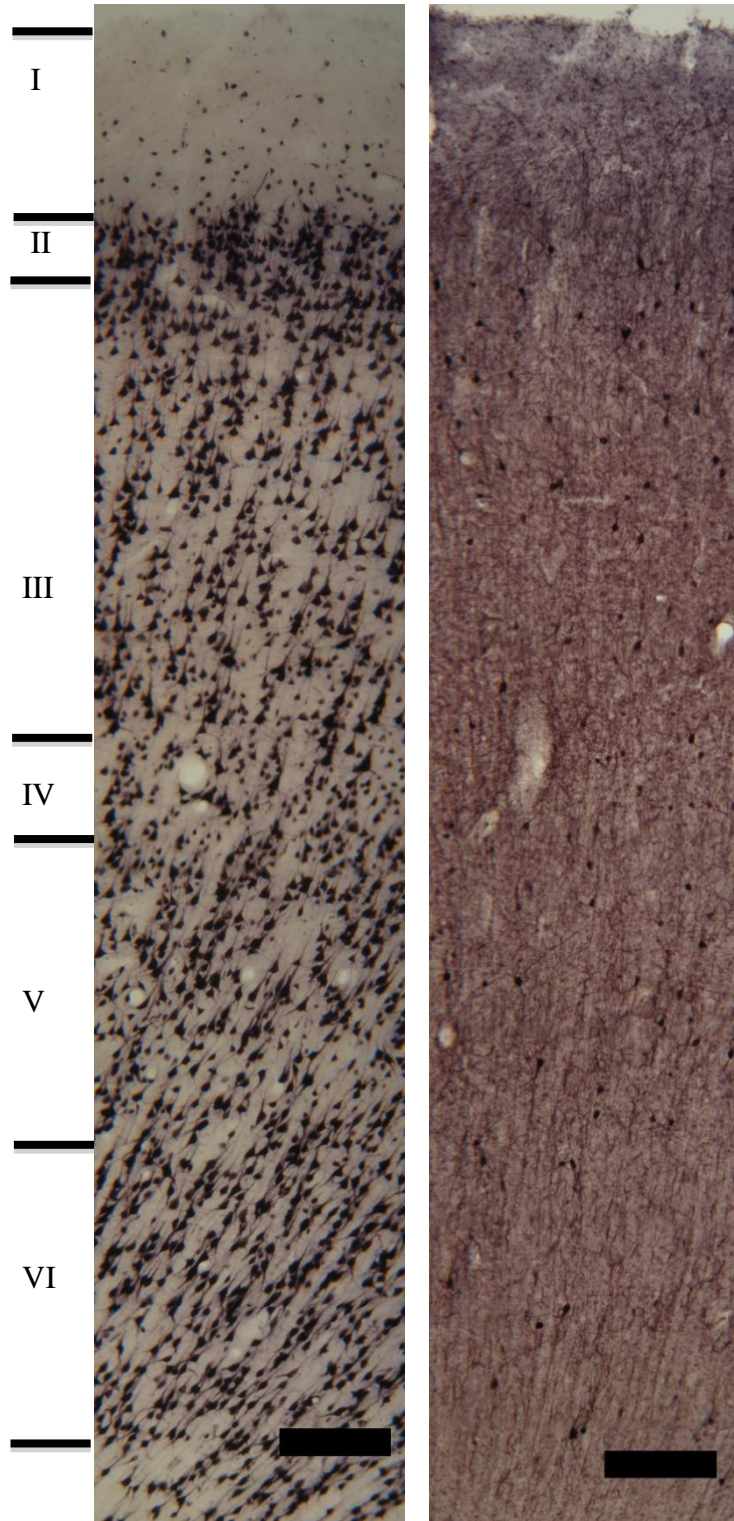


Figura 1. Fotografías tomadas a 10X ilustrando el patrón de marcación para los anti cuerpos NeuN (Izquierda) y Parvoalbúmina (Derecha) en cortes coronales del área 9 medial de la corteza prefrontal. Nótese el tamaño de las neuronas piramidales al final de la lámina III

(Barras corresponden a 200 micras)

SB

Organización neuronal en el área 10 de la corteza prefrontal

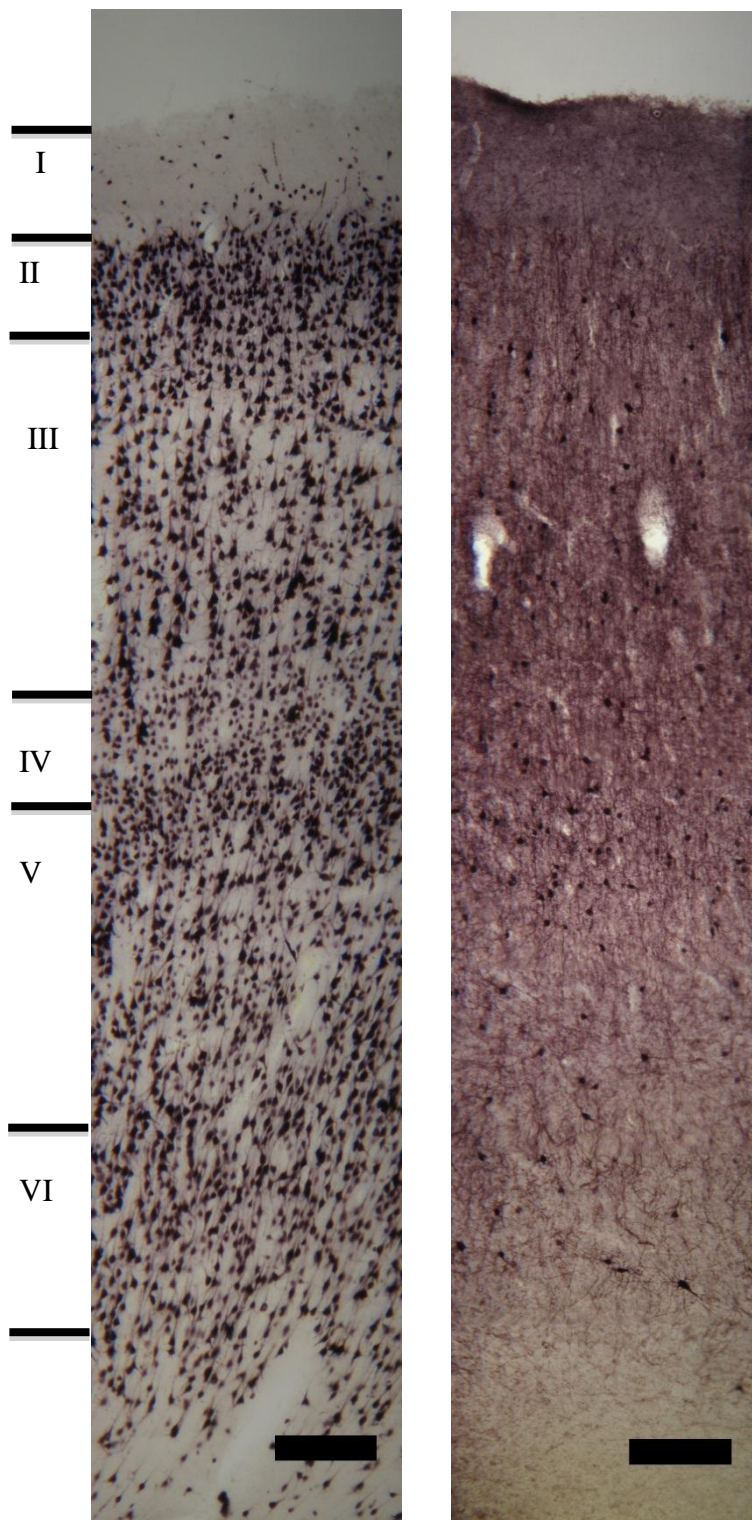


Figura 2. Fotografías tomadas a 10X ilustrando el patrón de marcación para los anti cuerpos NeuN (Izquierda) y Parvoalbúmina (Derecha) en cortes coronales del área 10 orbital de la corteza prefrontal. Nótese la mayor definición laminar de la lámina IV en comparación con la figura 1, así como la mayor densidad de neuronas inmunoreactivas para parvoalbumina en la región superficial de la lámina V (Barras corresponden a 200 micras)

SB

Organización neuronal en el área 24 de la corteza prefrontal

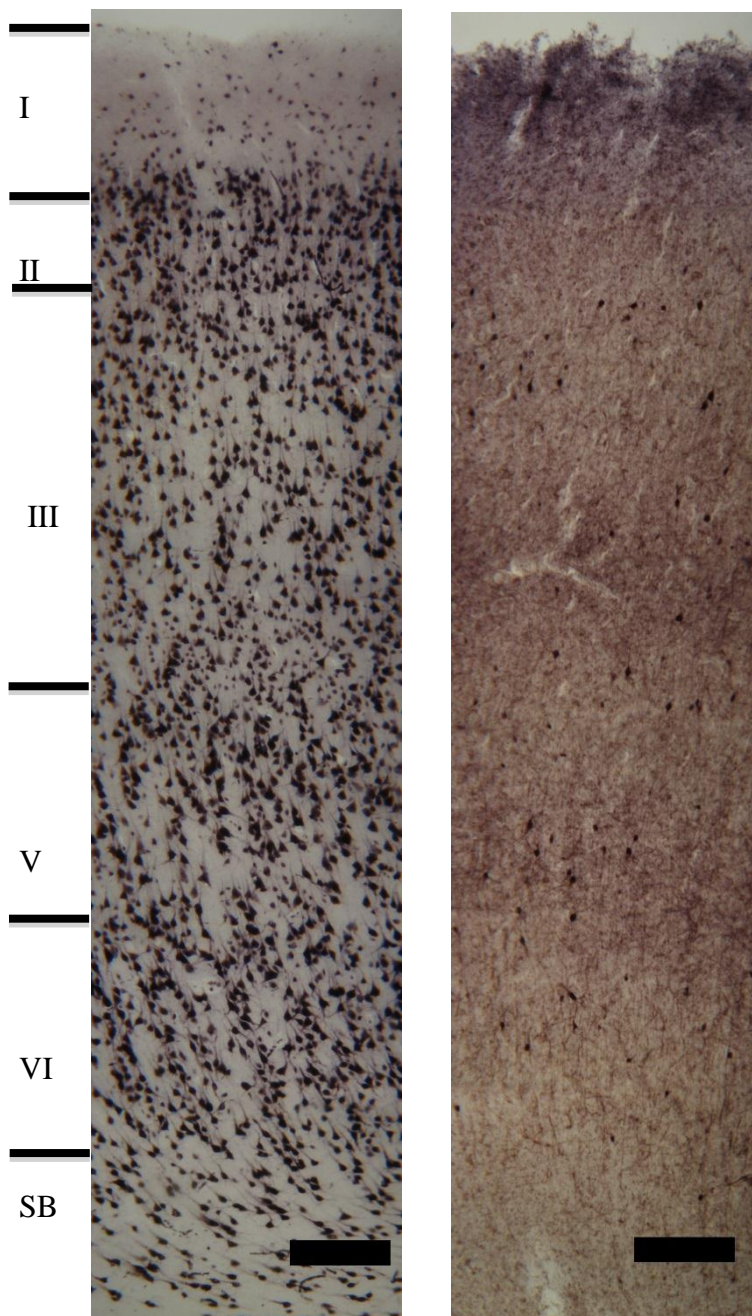


Figura 3. Fotografías tomadas a 10X ilustrando el patrón de marcación para los anti cuerpos NeuN (Izquierda) y Parvoalbúmina (Derecha) en cortes coronales de la región anterior del cíngulo. En esa imagen se evidencia menor cantidad de neuronas y de neuropilo en comparación con las otras áreas a estudiar

(Barras corresponden a 200 micras)

Organización neuronal en el área 46 de la corteza prefrontal

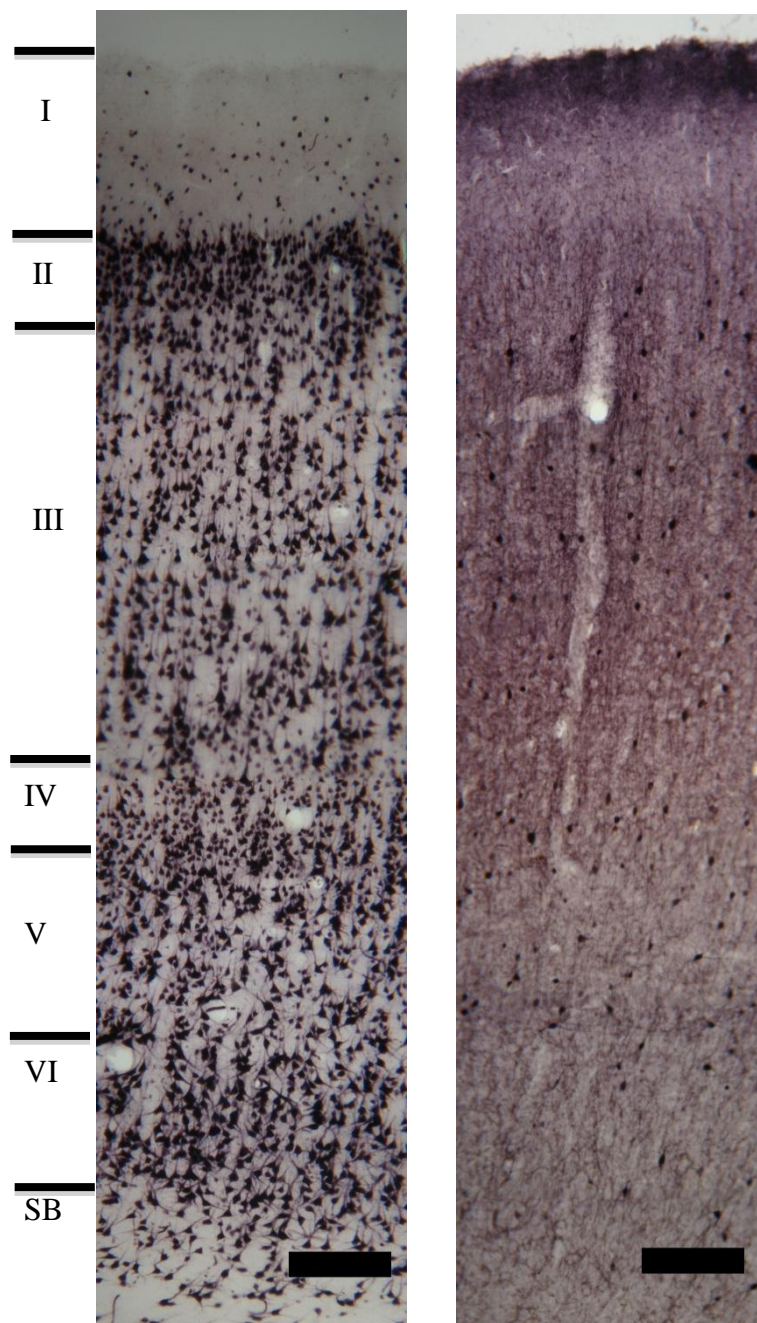


Figura 4. Fotografías tomadas a 10X ilustrando el patrón de marcación para los anti cuerpos NeuN (Izquierda) y Parvoalbúmina (Derecha) en cortes coronales del área 46 de la corteza prefrontal.

Nótese en las microfotografías la ausencia de marcación para parvoalbúmina en la lámina I y la baja densidad de estas en la lámina II

(Barras corresponden a 200 micras)

6.2 Asimetrías

Se realizó la prueba T de student para muestras independientes con el fin de determinar la existencia de asimetrías en cuanto a la cantidad de neuronas inmunoreactivas para parvoalbúmina, para ello, se tomaron en cuenta tres condiciones:

- El total de neuronas en las seis láminas de la corteza cerebral (siempre en una rejilla de 500 micras de ancho)
- El total de neuronas presentes en las capas supragranulares.
- El total de neuronas presentes en las capas infragranulares.

Dicho análisis se realizó para cada una de las cuatro áreas corticales estudiadas obteniendo los siguientes resultados

Área 9: a pesar de que en el hemisferio izquierdo se observó mayor densidad, en cuanto al promedio del total de neuronas (hemisferio izquierdo 114.19 Desviación estándar DE 23; hemisferio derecho 107.17 DE 16.082), al promedio del número de neuronas en el sector infragranular (hemisferio izquierdo 54 DE 14.06 hemisferio derecho 47.94 DE 11.8) y al promedio del número de neuronas en el sector supragranular (hemisferio izquierdo 60.19 DE 12.3; hemisferio derecho 59.2 DE 13.8), ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa, por lo que se podría decir que en el presente estudio no se evidencian asimetrías interhemisféricas en la expresión de las neuronas inmunorreactivas a este marcador (Ver tablas 4 y 5)

Tabla 4.

Estadísticos descriptivos de la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en el área 9 medial de la corteza prefrontal

	HEMISFERIO	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Promedio del número de neuronas	IZQUIERDO	21	114.19	23.004	5.020
	DERECHO	18	107.17	16.082	3.790
Promedio del número de neuronas. Infragranular	IZQUIERDO	21	54.000	14.0677	3.0698
	DERECHO	18	47.944	11.8444	2.7918
Promedio del número de neuronas. Supragranular	IZQUIERDO	21	60.19	12.234	2.670
	DERECHO	18	59.22	13.838	3.262

Tabla 5

Prueba t de student para muestras independientes comparando el número neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en los dos hemisferios del área 9 medial de la corteza prefrontal.

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Promedio del número de neuronas	Equal variances assumed	1.124	.296	1.087	37	.284	7.024	6.463	-6.072	20.119
	Equal variances not assumed			1.117	35.667	.272	7.024	6.290	-5.737	19.785
promedio del número de neuronas. Infragranular	Equal variances assumed	.210	.650	1.440	37	.158	6.0556	4.2056	-2.4659	14.5770
	Equal variances not assumed			1.459	36.993	.153	6.0556	4.1494	-2.3520	14.4631
Promedio del número de neuronas. Supragranular	Equal variances assumed	.459	.502	.232	37	.818	.968	4.174	-7.489	9.426
	Equal variances not assumed			.230	34.317	.820	.968	4.215	-7.594	9.531

Área 24: en la región anterior del cíngulo, se observa un patrón distinto al encontrado en el área 9 (Tabla 6): a pesar de que el conteo total de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina evidenció promedios muy similares para los dos hemisferios (hemisferio izquierdo 86 DE 23,50; hemisferio derecho 87 DE 24.01) sin embargo, en la región infragranular se obtuvo como resultado, menor cantidad de neuronas en el hemisferio izquierdo que en el derecho (hemisferio izquierdo 31.47 DE 9.7; hemisferio derecho 34.8 DE 9.5) mientras que el promedio de neuronas inmunopositivas para parvoalbúmina en la región supragranular de la corteza cerebral fue superior en el hemisferio izquierdo que en el derecho (hemisferio izquierdo 54.5 DE 19.3; hemisferio derecho 53.5 DE 17.8) no obstante, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (ver tabla 7) por lo que se podría atribuir con un alto grado de certeza, que las diferencias de promedios observadas se deben al azar y no a una diferencia en la expresión de dichas neuronas.

Tabla 6. Estadísticos descriptivos de la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en el área 24 de la corteza prefrontal

	HEMISFERIO	N	Std.		
			Mean	Deviation	Std. Error Mean
Promedio del número de neuronas	IZQUIERDO	21	86.00	23.507	5.130
	DERECHO	21	87.86	24.500	5.346
Promedio del número de neuronas. Infragranular	IZQUIERDO	21	31.476	9.7551	2.1287
	DERECHO	21	34.667	9.5096	2.0752
Promedio del número de neuronas. Supragranular	IZQUIERDO	21	54.52	19.320	4.216
	DERECHO	21	53.19	17.801	3.884

Tabla 7. Prueba t para muestras independientes neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en el área 24 de la corteza prefrontal.

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Promedio del número de neuronas	Equal variances assumed	.302	.586	-.251	40	.803	-1.857	7.409	-16.832	13.117
	Equal variances not assumed			-.251	39.932	.803	-1.857	7.409	-16.833	13.118
promedio del número de neuronas. Infragranular	Equal variances assumed	.000	.986	-1.073	40	.290	-3.1905	2.9729	-9.1988	2.8179
	Equal variances not assumed			-1.073	39.974	.290	-3.1905	2.9729	-9.1990	2.8180
Promedio del número de neuronas. Supragranular	Equal variances assumed	.002	.969	.233	40	.817	1.333	5.733	-10.253	12.919
	Equal variances not assumed			.233	39.735	.817	1.333	5.733	-10.255	12.922

Área 10: en esta región tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina, (ver tablas 8 y 9) el conteo total en el hemisferio izquierdo fue de 134.5 (DE 22.9) mientras que en hemisferio derecho fue de 142.1 DE (35.09); para la expresión infragranular, se obtuvo un promedio de 50.5 (DE 15.08) para el hemisferio izquierdo y 57.28 (DE 28.4) para el hemisferio derecho. Por último en cuanto a la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en la región supragranular del área 10 se obtuvo un promedio de 84 (DE 16.9) para el hemisferio izquierdo y un promedio de 84.81 DE 13.9 para el hemisferio derecho.

Tabla 8. Estadísticos descriptivos de la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en los dos hemisferios del área 10 de la corteza prefrontal

Group Statistics					
	HEMISFERIO	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Promedio del número de neuronas	IZQUIERDO	21	134.52	22.975	5.014
	DERECHO	21	142.10	35.091	7.658
Promedio del número de neuronas. Infragranular	IZQUIERDO	21	50.524	15.8070	3.4494
	DERECHO	21	57.286	28.4449	6.2072
Promedio del número de neuronas. Supragranular	IZQUIERDO	21	84.00	16.991	3.708
	DERECHO	21	84.81	13.966	3.048

Tabla 9. Prueba t para muestras independientes comparando el número de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en los dos hemisferios del área 10 de la corteza prefrontal

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Promedio del número de neuronas	Equal variances assumed	3.219	.080	-.827	40	.413	-7.571	9.153	-26.070	10.927
	Equal variances not assumed			-.827	34.485	.414	-7.571	9.153	-26.163	11.020
promedio del número de neuronas. Infragranular	Equal variances assumed	5.340	.026	-.952	40	.347	-6.7619	7.1012	-21.1140	7.5902
	Equal variances not assumed			-.952	31.277	.348	-6.7619	7.1012	-21.2398	7.7159
Promedio del número de neuronas. Supragranular	Equal variances assumed	1.366	.249	-.169	40	.867	-.810	4.800	-10.510	8.891
	Equal variances not assumed			-.169	38.555	.867	-.810	4.800	-10.521	8.902

Área 46. De la misma manera que las otras áreas corticales estudiadas, en la región dorsolateral de la corteza prefrontal (área 46) no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la cantidad de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina. En el conteo total, en el hemisferio izquierdo se observaron en promedio 140 neuronas (DE 17.28) y en el derecho 142.52 (DE 37.16) Para el caso de la región infragranular, el promedio de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en el hemisferio izquierdo fue de 66.09 (DE 18.6), mientras que para el hemisferio derecho fue de 59.9 (DE 29.15). Y por último, en cuanto a la

región supragranular, se observó un promedio de 74.8 (DE 16.5) para el hemisferio izquierdo y 82.6 (DE 17.9) para el hemisferio derecho (Ver tablas 10 y 11)

Tabla 10. Estadísticos descriptivos de la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en el área 46 de la corteza prefrontal

Group Statistics					
	HEMISFERIO	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Promedio del número de neuronas	IZQUIERDO	21	140.90	17.280	3.771
	DERECHO	21	142.52	37.168	8.111
Promedio del número de neuronas. Infragranular	IZQUIERDO	21	66.095	18.6250	4.0643
	DERECHO	21	59.905	29.1512	6.3613
Promedio del número de neuronas. Supragranular	IZQUIERDO	21	74.81	16.534	3.608
	DERECHO	21	82.62	17.907	3.908

Tabla 11. Prueba t para muestras independientes neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en el área 46 de la corteza prefrontal.

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Promedio del número de neuronas	Equal variances assumed	8.624	.005	-.181	40	.857	-1.619	8.944	-19.696	16.458
	Equal variances not assumed			-.181	28.260	.858	-1.619	8.944	-19.933	16.695
promedio del número de neuronas. Infragranular	Equal variances assumed	3.610	.065	.820	40	.417	6.1905	7.5488	-9.0663	21.4472
	Equal variances not assumed			.820	33.996	.418	6.1905	7.5488	-9.1507	21.5316
Promedio del número de neuronas. Supragranular	Equal variances assumed	.117	.735	-1.468	40	.150	-7.810	5.318	-18.559	2.940
	Equal variances not assumed			-1.468	39.748	.150	-7.810	5.318	-18.561	2.942

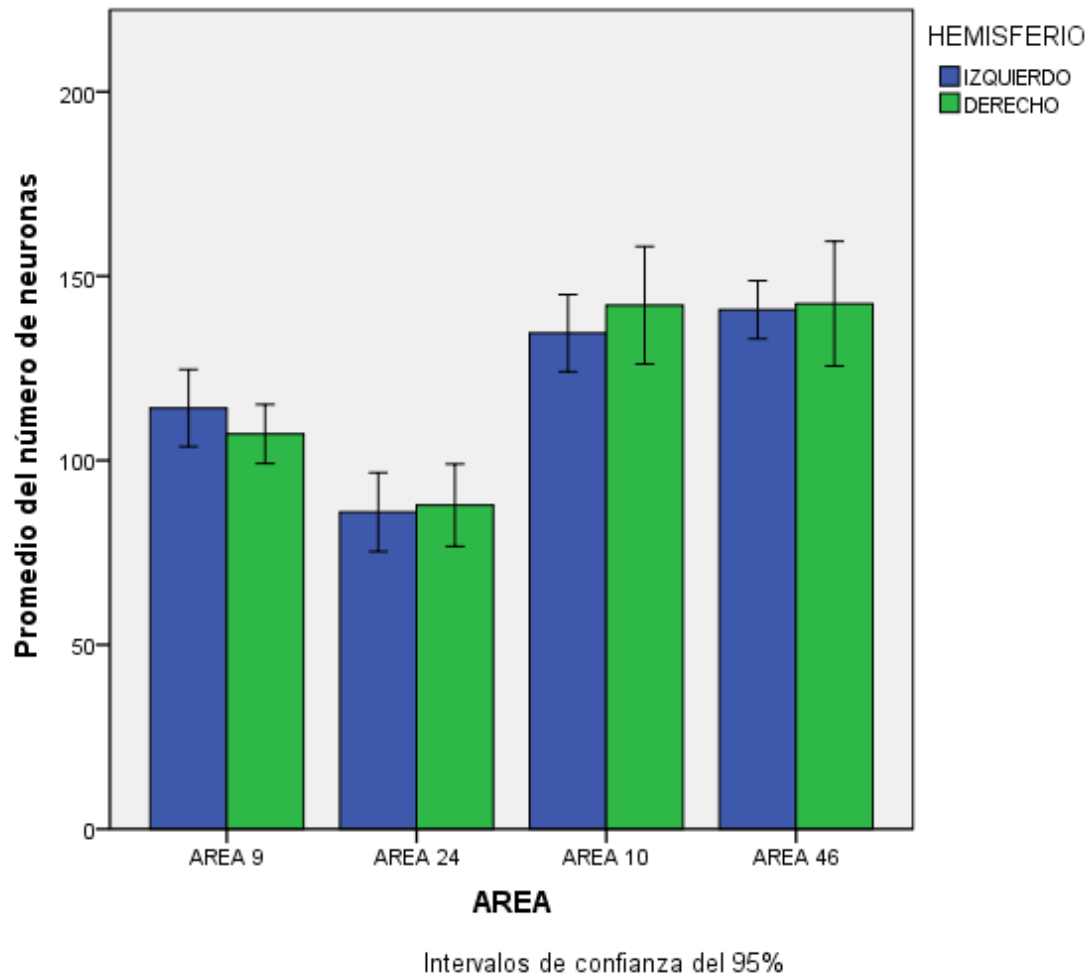


Figura 5. Promedio de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en rejillas de registro de 500 micras de ancho, evaluando desde la superficie pial hasta los límites de la lámina VI con la sustancia blanca subyacente

6.3 Diferencias Entre Áreas

Se utilizó el análisis de Varianza ANOVA con la finalidad de determinar si existían o no diferencias en cuanto al número de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en cada una de las regiones corticales a estudiar, este análisis se realizó bajo tres condiciones: 1) el promedio de neuronas observadas en reglillas de registro de 500 micras de ancho, cubriendo verticalmente las seis láminas, 2) el promedio de neuronas observadas en reglillas de registro de 500 micras de ancho, a través de la porción infragranular 3) y el promedio de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina, observadas en reglillas de registro de 500 micras de ancho a través de la porción supragranular.

Análisis de varianza para el número de neuronas en las seis láminas.

Cuando se comparó el promedio de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina se observó la existencia de diferencias significativas entre las áreas corticales a estudiar, en el área 24 se encuentra el promedio más bajo de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina mientras que la 46 y la 10 el más alto.

El análisis Post Hoc revela que se pueden establecer tres grupos, el de menor número de neuronas, conformado por el área 24, con un promedio de 86.93, el cual se diferencia significativamente del observado en cada una de las otras áreas corticales estudiadas. Un segundo grupo estaría conformado por el área 9, con un promedio de 110.95, el cual es significativamente superior al del área 24 y significativamente inferior al observado en las áreas 10 y 46 de la corteza cerebral. Y por último, un tercer grupo conformado por el área 10 (138.31) y el área 46 (142.71) cuyos promedios de número de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina son significativamente superiores a los observados en las áreas corticales 9 y 24. (Ver: tablas 12, 13 y figura 6)

Tabla 12, análisis de varianza ANOVA comparando las diferencias en la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en cada una de las áreas estudiadas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	82992.218	3	27664.073	41.253	.000
Within Groups	107966.231	161	670.598		
Total	190958.448	164			

Tabla 13, análisis post hoc de Tukey (seis láminas)

Subset for alpha = 0.05				
AREA	N	1	2	3
24	42	86.93		
9	39		110.95	
10	42			138.31
46	42			141.71
Sig.		1.000	1.000	.933

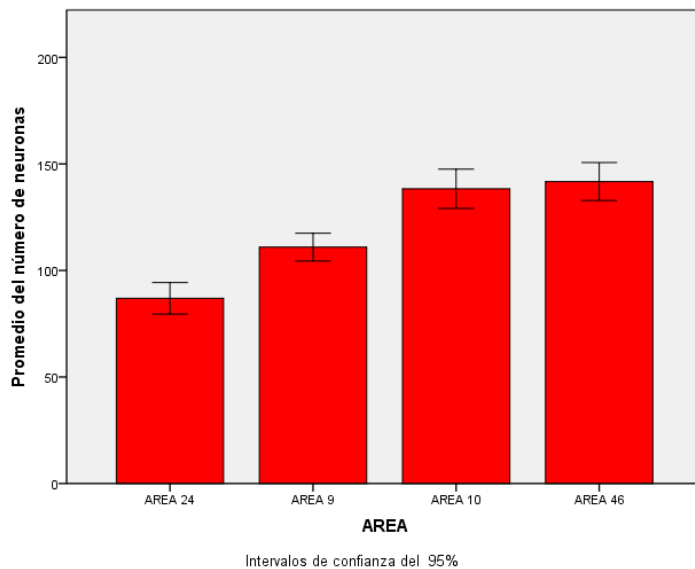


Figura 6. promedio del número de neuronas observadas a lo largo de las seis láminas tomando muestras de 500 micras de ancho.

Análisis de varianza para el número de neuronas en la porción infragranular.

Para determinar la existencia de diferencias en cuanto a la expresión de las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en la región infragranular también se realizó la prueba de análisis de Varianza ANOVA y se encontró como resultado que se pueden conformar tres grupos homogéneos: el primero de ellos compuesto por el área 24, con un promedio de 33.071 neuronas, el segundo grupo conformado por el área 9 medial de la corteza (promedio de 51,205), y por el área 10 (53.905) y el tercero, el de mayor cantidad de neuronas, conformado por el área 46 (63) y el área 10 (53.905). Lo anterior indicaría que el área 46 es similar a la 9, y a la 10, pero que la 9 y la 10 se diferencian significativamente. (Ver tablas 14, 15 y figura 7)

Tabla 14, análisis de varianza ANOVA comparando las diferencias en la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en la región infragranular

Promedio del número de neuronas. Infragranular					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19818.412	3	6606.137	18.820	.000
Within Groups	56512.764	161	351.011		
Total	76331.176	164			

Tabla 15, análisis post hoc de Tukey (infragranular).

AREA	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
24	42	33.071		
9	39		51.205	
10	42		53.905	53.905
46	42			63.000
Sig.		1.000	.914	.127

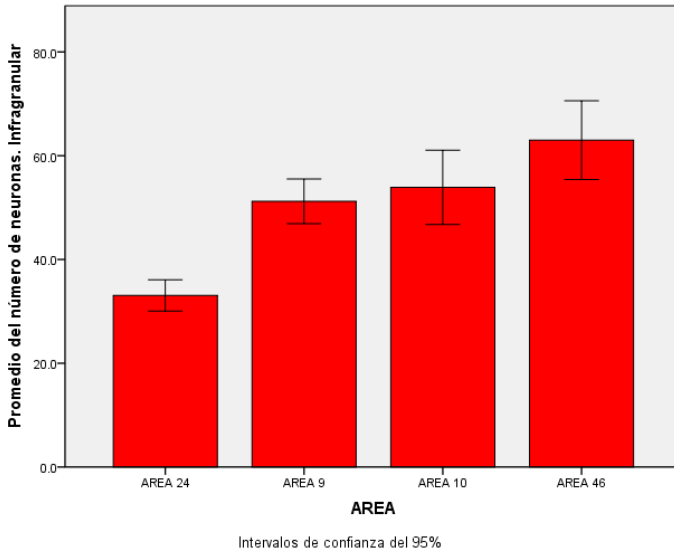


Figura 7. promedio del número de neuronas en la porción infragranular, tomando muestras de 500 micras de ancho.

Análisis de varianza para el número de neuronas en la porción supragranular.

La última de las comparaciones múltiples entre áreas fue la realizada para determinar si el número de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en la porción supragranular, era diferente en cada una de las áreas corticales a estudiar. Dicho análisis mostró que de la misma manera que en la extensión total de la corteza y en la expresión en la porción infragranular, existen diferencias que son estadísticamente significativas para esta condición. El análisis Post Hoc de Tukey, indica que se pueden conformar dos grupos homogéneos, el primero de ellos compuesto por el área 24 y el área 9 medial, las cuales presentan los promedios de neuronas más bajos, (53.86 y 59.74 respectivamente). Y el segundo, conformado por el área 46 y el área 10 con promedios de 78.71 y 84.40 respectivamente (Ver tablas 16 y 17)

En este caso, es de resaltar que diferente a lo observado en la extensión total de la corteza y en la expresión infragranular, en la región supragranular, el área 9 medial mostró un comportamiento muy similar al de la región anterior del cíngulo (área 24), entonces, pareciera que la expresión infragranular de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en el área 9 (disgranular), se asemeja al de regiones más evolucionadas (eulaminadas) mientras que en regiones supragranulares, se asemeja más al de áreas corticales menos evolucionadas (agranulares) (Ver figura 8)

Tabla 16, análisis de varianza ANOVA comparando las diferencias en la expresión de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en la región supragranular.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26882.343	3	8960.781	34.121	.000
Within Groups	42281.269	161	262.617		
Total	69163.612	164			

Tabla 17. Análisis post hoc de Tukey (Supragranular).

Tukey HSD			
Subset for alpha = 0.05			
AREA	N	1	2
24	42	53.86	
9	39	59.74	
46	42		78.71
10	42		84.40
Sig.		.354	.385

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

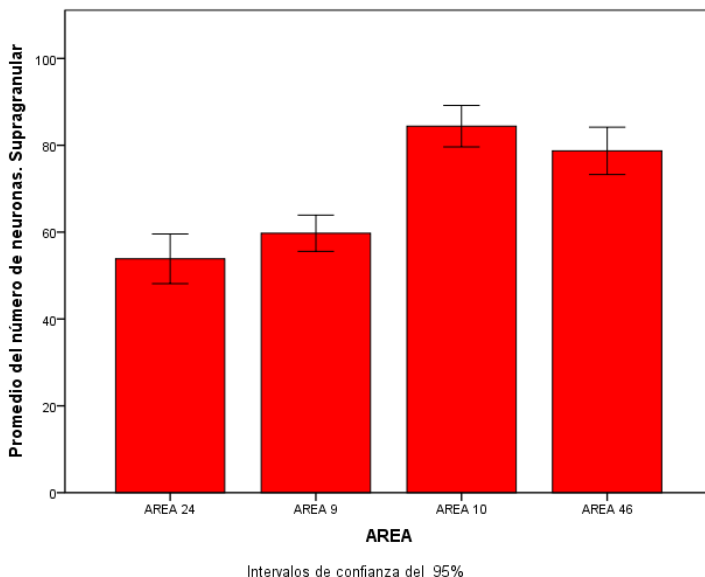


Figura 8. Promedio del número de neuronas en la porción supragranular, tomando muestras de 500 micras de ancho.

6.4 Comparación de Expresión Infra y Supragranular

Como parte del proceso de caracterización, se realizó la comparación del número de neuronas en la región infra y supragranular para cada una de las regiones estudiadas, obteniendo como resultado diferencias significativas en cada una de las regiones a estudiar (Tablas 18, 19 y 20; Figura) lo que indica que tanto en regiones de poca y mucha diferenciación laminar, se mantiene el predominio de la expresión de neuronas inmunopositivas para parvoalbúmina en la región supragranular

Tabla 18. Prueba t, comparando expresión infra y supragranular en el área 9

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	promedio del número de neuronas. Infragranular - Promedio del número de neuronas. Supragranular	-8.5385	16.5861	2.6559	-13.9150	-3.1619	-3.215	38	.003

Tabla 19. Prueba t, comparando la expresión infra y supragranular en el área 24

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
				Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	promedio del número de neuronas. Infragranular - Promedio del número de neuronas. Supragranular	-20.7857	17.2408	2.6603	-26.1583	-15.4131	-7.813	41	.000

Tabla 20. Prueba t, comparando la expresión infra y supragranular en el área 10

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	promedio del número de neuronas. Infragranular - Promedio del número de neuronas. Supragranular	-30.5000	25.6127	3.9521	-38.4815	-22.5185	-7.717	41	.000

Tabla 19. Prueba t, comparando la expresión infra y supragranular en el área 46

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	promedio del número de neuronas. Infragranular - Promedio del número de neuronas. Supragranular	-15.7143	31.2678	4.8247	-25.4580	-5.9706	-3.257	41	.002

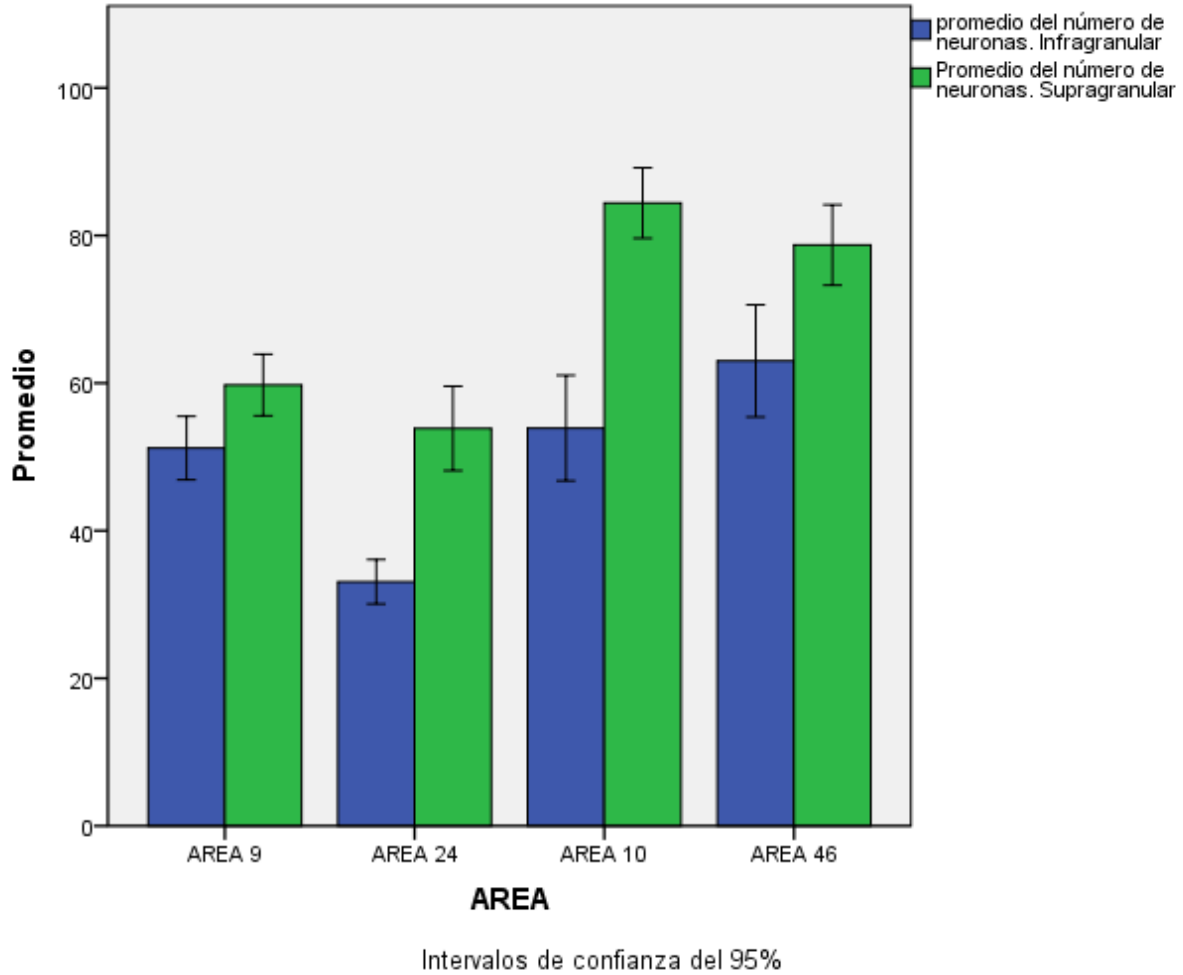


Figura 9. Comparación de la expresión infra y supragranular de parvoalbúmina.

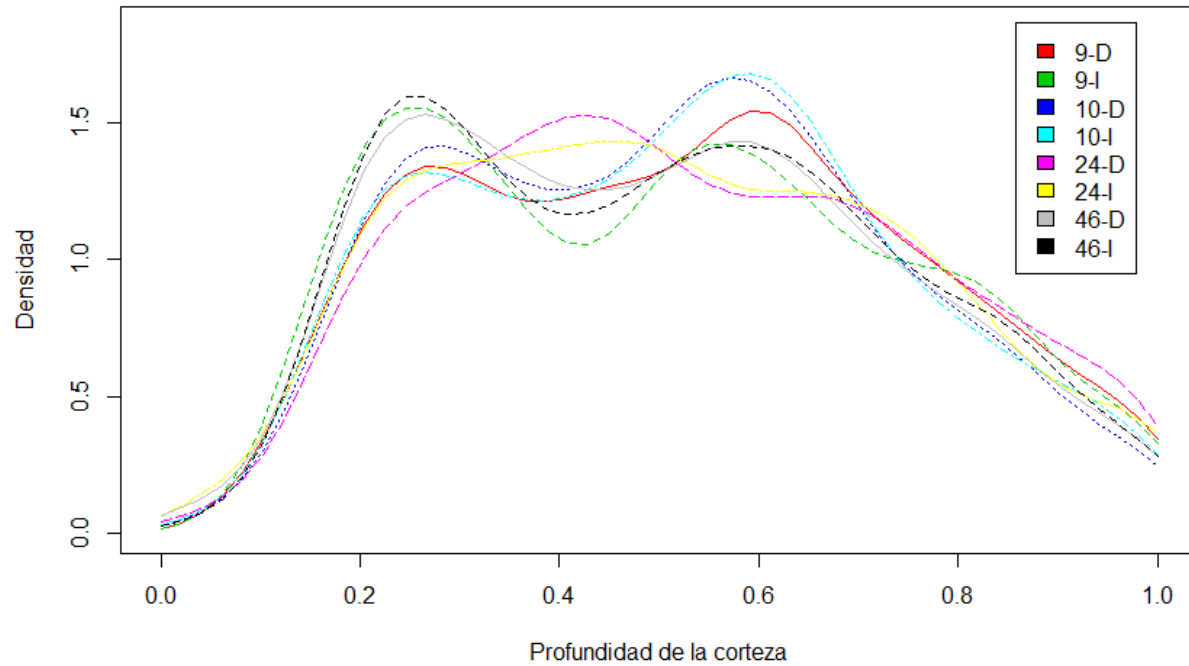


Figura 10 parámetro normalizado de la expresión de neuronas parvoalbúmina positivas tomando como base la superficie pial (0,0) hasta el límite de la sustancia blanca subyacente (1,0) nótese que las líneas morada y amarilla (área 24 derecha e izquierda) no alcanzan el pico descendiente en la mitad de la curva (lámina IV, en el eje X el espacio cercano a 0,4) como sí lo hacen las demás.

7. DISCUSIÓN

7.1 Distribución de las Interneuronas Inmunopositivas en la Corteza Prefrontal

La parvoalbúmina es un tipo de proteína atrapadora de calcio que se encuentra presente principalmente en las interneuronas inhibitorias de tipo candelabro y en Cesta, se ha observado que este tipo de células ejercen un fuerte poder inhibitorio, estableciendo contactos sobre el segmento inicial del axón y el soma de las neuronas piramidales, por tal motivo, las alteraciones que se presenten en la subpoblación de neuronas IR para parvoalbúmina podría ser un buen indicador de la manera en que se está estableciendo la regulación sobre los circuitos de salida de la corteza cerebral.

En concordancia con lo anterior, se pudo observar que en las regiones estudiadas hay una alta presencia de neuronas parvoalbúmina positivas en las láminas III, V y VI y una baja presencia de estas células en las láminas I, II y IV; esto se puede explicar porque las primeras están ubicadas en láminas donde existe predominio de células piramidales.

Si se describe la organización de las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina partiendo desde la superficie pial hasta la sustancia blanca subyacente se observa un inicio de la reactividad en el borde entre las láminas II y III, en ese punto se observa un aumento progresivo de la densidad neuronal hasta alcanzar su pico más alto en las regiones medias de la lámina III; allí comienza un descenso que llega hasta una ausencia casi total en la lámina IV. Cuando termina la lámina IV e inicia la V comienza a aumentar de nuevo la densidad neuronal, y se alcanza un segundo pico de alta en los sectores profundos de la lámina V; una vez allí, nuevamente comienza un descenso en la densidad neuronal, que esta vez ocurre de un modo más gradual, hasta que en los bordes de la lámina VI con la sustancia blanca subyacente desaparecen casi por completo.

Lo descrito anteriormente corresponde con un patrón de organización como el que se observa en la Figura 9 y es relativamente constante en todas las áreas a estudiar (aunque con algunas diferencias importantes que serán retomadas más adelante) debido a esto, se plantea que el análisis de la distribución neuronal se puede realizar dividiendo la corteza en el sector supra e

infragranular, los cuales corresponden con el primer y segundo pico de aumento en la densidad neuronal respectivamente.

Una vez se tiene en cuenta esto, el primer aspecto relevante para el estudio fue evaluar si existían asimetrías interhemisféricas en las regiones a estudiar y tal como se observó en los resultados, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a esta variable. Esto se encuentra en concordancia con estudios anteriores en los cuales se observa una ausencia de asimetría interhemisférica en regiones prefrontales, por ejemplo Buxhoeveden y Casanova (2005) no encontraron diferencias en cuanto a la organización minicolumnar de la corteza en regiones prefrontales; Umbarila (2006) tampoco encontró diferencias en cuanto al patrón de organización laminar. Lo anterior corroboraría que por lo menos para el caso de áreas prefrontales, existe una simetría que permite valorar los dos hemisferios como un mismo sistema anatómico. No obstante, es de resaltar que a pesar de no haberse detectado diferencias micro estructurales, en las regiones prefrontales existe una asimetría funcional (Hugdahl K, Davidson R 2002) la cual muy posiblemente va acompañada de diferencias anatómicas, pero estas no se relacionan con el sub tipo de población de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina. Es posible que dichas diferencias, de existir, se encuentren en términos de patrones de organización que actualmente no hemos evaluado.

Por otro lado, cuando se realizó la comparación de la inmunorreactividad para parvoalbúmina en las diferentes regiones prefrontales, se pudo evidenciar que el área 24 (Agranular), presenta la más baja densidad neuronal de las regiones evaluadas; el área 9 (Disgranular) muestra una mayor densidad que el área 24, aunque menor que el área 46 (Granular) y que el área 46 además de presentar mayor densidad que las otras dos regiones estudiadas, tiene niveles similares a otras regiones prefrontales granulares, como es el caso del área 10.

Si se observa de manera separada los sectores infra y supragranlares de estas regiones se evidencia un patrón similar, aunque con una diferencia para el área 9 y es que en sectores supragranulares esta región se parece (no presenta diferencias significativas) al área 24, mientras que en sectores infragranulares se asemeja a la 46.

Desde el punto de vista de la teoría de Sanides (1970) sobre los trenes evolutivos de la corteza cerebral, se podría interpretar que existe una relación entre el aumento de diferenciación laminar en el tren arquicortical y el aumento en el control inhibitorio realizado por las células en cesta y candelabro. Los sistemas evolutivamente nuevos están altamente implicados en comportamientos complejos y requieren sistemas complejos de regulación de la actividad. Estos cambios, de acuerdo al patrón de organización laminar serían similares a los observados en primates no humanos (Dombrowski et al 2003) y en ese sentido se puede decir que los mecanismos subyacentes a este tipo de organización no son exclusivamente humanos sino que obedecen a un proceso de evolución filogenética que involucra ancestros lejanos.

En los resultados se observa que en todas las regiones estudiadas existe un predominio de la neuronas parvoalbúmina positivas en las regiones supragranulares, en dichas zonas predominan las conexiones de tipo corticocortical mientras que en las infragranulares como la V y VI predominan las de tipo corticosubcortical y corticotálámicas respectivamente, (Pandya & Seltzer 1988; Pimienta 2004) debido a esto, se podría plantear la primera hipótesis, derivada del estudio y es que la parvoalbúmina no solo regula la actividad de la corteza sino que específicamente juega un papel determinante en la regulación de la actividad cortico cortical mediada por células piramidales. Esta hipótesis también se sustenta en el hecho de que existe un mayor predominio de conexiones cortico corticales en regiones granulares eulaminadas como el área 10 o la 46, mientras que regiones como la 24 con menor desarrollo laminar, se observa un mayor número de conexiones con regiones subcorticales (Fuster 2008)

Además del aumento del número de neuronas, se evidencia una estratificación de la distribución de las mismas: en el área 24, no se observan cambios abruptos en la densidad neuronal, mientras que áreas como la 10 o la 46, sí se evidencian estos y se representan por los picos hacia arriba y hacia abajo, tal como se observa en la Figura 9. Dicha estratificación indicaría que las regiones de aparición evolutiva tardía también presentan un proceso de especialización en cuanto a la expresión de este tipo de neuronas.

Existe una relación -aunque no necesariamente causal- la cual indica que a mayor número de conexiones corticocorticales, mayor cantidad de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina, esto es de especial relevancia en términos funcionales en la medida en que las neuronas de este tipo se caracterizan por ser de disparo rápido (Galarreta & Hestrin 2002) y por

jugar un papel importante en el mantenimiento de los ítems en tareas de memoria de trabajo por medio del poder inhibitorio sobre las señales distractoras (Zhou , Katsuki , Qi & Constantinidis 2012)

A partir de la relación entre los hallazgos del presente trabajo y del papel funcional de la parvoalbúmina como proteína atrapadora de calcio presente en sub poblaciones específicas de interneuronas se plantean los siguientes postulados a manera de hipótesis:

El tren evolutivo arquicortical, que inicia su proceso partiendo de la corteza hipocampal y asciende medialmente hasta alcanzar la superficie lateral , no sólo se caracteriza por un aumento en la diferenciación laminar, sino también por un perfeccionamiento en el control inhibitorio, caracterizado por el aumento del número de interneuronas en cesta y candelabro y por una organización más compleja de las mismas, estableciendo específicamente dos bandas de alta densidad ubicadas en las láminas III y V. Esta variación con relación a otras regiones corticales permitiría un tipo especial de procesamiento caracterizado por la posibilidad de fortalecer o inhibir información proveniente tanto de los sentidos como de la memoria a largo plazo, dicho proceso jugaría un papel importante tanto para el funcionamiento ejecutivo como para la memoria de trabajo. Si estos circuitos de alto poder inhibitorio no funcionaran de manera apropiada podrían ocurrir un espectro de dificultades en el funcionamiento cognitivo, y es precisamente eso lo que se encuentra en patologías relacionadas con alteraciones en las neuronas IR para parvoalbúmina como la esquizofrenia (Lewis, Hashimoto & Volk 2005)

En la corteza cerebral existe un grupo diverso de procesos complejos, pero lo que caracteriza específicamente al funcionamiento ejecutivo es la flexibilidad, la velocidad de procesamiento de y el control atencional (Fuster 2008) dichos procesos involucrarían necesariamente un alto control sobre la excitación y la inhibición neuronal.

De lo anterior surgiría la interrogante: ¿Qué ocurre con el procesamiento de la información en regiones filogenéticamente antiguas?

Desde la teoría de Sanides, el marcador evolutivo en la corteza cerebral tiene que ver con un aumento en el patrón laminar. Sin embargo, Nimchinsky et al (1999) ponen de manifiesto que en la corteza prefrontal ha ocurrido un proceso evolutivo adicional a al aumento en la complejidad en el patrón de organización neuronal y este tiene que ver con la aparición de especializaciones

anatómicas tales como las neuronas Von Economo, lo sorprendente de estas particularidades es que además de ser específicas de mamíferos con sistemas sociales-emocionales complejos, se encuentran presentes en regiones corticales consideradas filogenéticamente antiguas, tales como la región anterior de la ínsula, el giro cíngulo (área 24) y en menor medida en el área 9 medial (Fajardo et al 2008)

Esto implica que dichas regiones a pesar de no tener un complejo sistema de organización laminar, ni de evidenciar una estratificación de neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina, sí evidencian un patrón de cambio, pero al tener una naturaleza distinta, da como consecuencia funciones distintas: las regiones donde se encuentran las neuronas de Von Economo se relacionan con procesos motivacionales, que involucran la persistencia en una tarea a pesar de la ausencia del reforzador (Fuster 2008) o lo que Allman denomina intuición, que haría referencia a un proceso en el que se integra información proveniente de diferentes fuentes, con la finalidad de resolver un problema sin que medie directamente un proceso racional (Allman, Watson Tetreault & Hakeem 2006)

A partir de estos datos se podría pensar que más que comprender la evolución de la corteza cerebral como un sistema de trenes evolutivos, es un sistema con diferentes tendencias: en algunos casos estas traen como consecuencia una subdivisión modular del procesamiento, ocasionada por la estratificación en la organización neuronal (la cual favorece los procesos cognitivos complejos) y que en otros casos lo que ocasionan es la aparición de sistemas altamente integradores mediados por especializaciones anatómicas (lo que favorece los procesos emocionales complejos), en medio de este tipo de sistemas se encontraría el área 9 medial de la corteza prefrontal, la cual tiene características parciales de los dos sistemas: una diferenciación laminar en la que se distingue una lámina IV, aunque su poca diferenciación hace que se caracterice como disgranular, y presenta especializaciones funcionales como las neuronas de Von Economo, aunque con un bajo nivel de densidad (Fajardo et al 2008)

El hecho de que el área 9 presente los dos tipos de tendencias indicaría que estas no son mutuamente excluyentes y que dependen del proceso cognitivo en el que se encuentran implicadas las diferentes regiones, a saber, las regiones prefrontales dorsolaterales y anteriores (Granulares) cognición, regiones prefrontales mediales (agranulares) procesos emocionales y la

región intermedia (Disgranular) encargada de establecer una inter fase entre la cognición y la emoción.

7.2 Perspectivas de investigación:

- El presente estudio se centró en el análisis del tren evolutivo arquicortical, sería importante establecer el análisis en cuanto al tren evolutivo paleocortical y valorar si se observa el mismo fenómeno.
- Un análisis que incluya todas las áreas de la corteza permitiría validar los hallazgos del presente estudio.
- El anterior trabajo se situó en el contexto de la línea de investigación de corteza prefrontal del Centro de Estudios Cerebrales de la Universidad del Valle, investigaciones posteriores podrían incluir el análisis de otros marcadores más, entre los que se encuentran la Calbindina y la Calretinina; esto permitiría evaluar si el efecto observado en el presente trabajo ocurre también en otras sub poblaciones de interneuronas o únicamente incluye las mencionadas.

7.3 Consideraciones metodológicas:

El presente trabajo se planteó con un fin de tipo descriptivo, teniendo por objetivo principal la caracterización de las neuronas inmunorreactivas para parvoalbúmina en áreas de las tres superficies (Medial, orbital y lateral) corticales, para ello se tomaron como muestra regiones con diferentes grados de diferenciación laminar (Agranular, Disgranular y granular)

En el proceso descriptivo del trabajo se buscó también de establecer comparaciones entre las áreas en mención, y así como evaluar la presencia o no de diferencias inter hemisféricas. Los resultados provenientes de esta investigación proporcionan aportes al conocimiento de la microestructura de la corteza cerebral humana, dicho conocimiento es de gran relevancia teniendo en cuenta que la mayoría de investigaciones realizadas previamente provienen del estudio de primates no humanos (Passingham & Wise 2012)

Asimismo, a nivel metodológico el trabajo presenta unas fortalezas con relación a otros estudios neuroanatómicos:

- Hasta donde llega nuestro conocimiento, este es el primer estudio que evalúa las asimetrías interhemisféricas en cuanto a la expresión de parvoalbúmina en la corteza prefrontal humana.
- La mayoría de los estudios de citoarquitectura se centran en el análisis de las regiones sensoriales y motoras primarias, falta por explorar a profundidad la anatomía de la corteza prefrontal
- Existen muy pocos estudios de citoarquitectura en humanos en los que se pueda tener acceso a los dos hemisferios.
- La mayoría de los estudios, realizados en países desarrollados toman como muestra cerebros de personas que murieron debido a enfermedad médica o que se encontraban en edad avanzada. La muestra empleada en el presente estudio incluyó diversos tipos de muerte que no se asociaban directamente con alguna enfermedad médica; asimismo, se obtuvo como población adultos menores de 50 años, por tal motivo la muestra empleada en el presente estudio se asemejaría más al criterio de “normalidad” que los estudios de referencia.
- Analizar en dos dimensiones el espesor de la corteza desde la superficie pial hasta la sustancia blanca subyacente permite observar de manera clara los cambios en la distribución neuronal a lo largo de las diferentes láminas, incluso, algunos cambios derivados del proceso de sub laminación.

8. REFERENCIAS

- Abbie, A. A. 1940. Cortical lamination in the Monotremata. *J Compo NeuroL*, 72 428-467.
- Allman JM, Watson KK, Tetreault NA, Hakeem AY. (2005) Intuition and autism: a possible role for Von Economo neurons. *Trends Cogn Sci*; 9:367– 373.
- Allman, J. M., Tetreault, N. a, Hakeem, A. Y., Manaye, K. F., Semendeferi, K., Erwin, J. M., Park, S., et al. (2010). The von Economo neurons in frontoinsular and anterior cingulate cortex in great apes and humans. *Brain structure & function*, 214(5-6), 495–517. doi:10.1007/s00429-010-0254-0
- Allman, J., Watson, K., Hakeem, A. & Tetreault, Y. (2005), Intuition and autism: a possible role for Von Economo neurons, *Trends Cogn. Sci.* 9 367
- Arif, S. H. (2009). A Ca(2+)-binding protein with numerous roles and uses: parvalbumin in molecular biology and physiology. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 31(4), 410–21. doi:10.1002/bies.200800170
- Baddeley A (2003) Working Memory: Looking back And Looking Forward. *Nature Reviews / Neuroscience* 4 829-839
- Bailey, P., and von Bonin, G. (1951). “*The isocortex of Man.*” Univ. of Illinois Press, Urbana.
- Barbas , H, Henion , T. H. H. , and Dermon , C. R. (1991). Diverse thalamic projections to the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 313 , 65 – 94 .
- Barbas , H. and Rempel-Clower , N. (1997). Cortical structure predicts the pattern of corticocortical connections . *Cerebral Cortex* 7 , 635 – 646 .
- Barbas H. (2000). Connections underlying the synthesis of cognition, memory and emotion in primate prefrontal cortices. *Brain Research Bulletin*, 52, 5: 319-330.
- Baude A, Bleasdale1 C., Dalezios Y., Somogyi P. & Klausberger T (2007) Immunoreactivity for the GABAA Receptor $\alpha 1$ Subunit, Somatostatin and Connexin36 Distinguishes Axoaxonic, Basket, and Bistratified Interneurons of the Rat Hippocampus *Cereb. Cortex* 17 (9): 2094-2107. doi: 10.1093/cercor/bhl117
- Beer, J.S., O.P., Scabini, D., Knight, R.T. (2006). Orbitofrontal cortex and social behavior: integrating self-monitoring and emotion-cognition interactions. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 18, 871–9.

- Bentivoglio y Bertini (2002) Tract Tracing Methods at the Light Microscopic Level. En A. Merighi & G. Carmignoto *Cellular and Molecular Methods in Neuroscience Research*. (203-220) New York. Springer.
- Burruss, J. W., Hurley, R. A., Taber, K. H., Rauch, R. A., Norton, R. E., & Hayman, L. A. (2002). Special Report Functional Neuroanatomy of the Frontal Lobe Circuits. *Radiology* 227–230.
- Butler B. & Hodos w. (2005) Comparative Vertebrate Neuroanatomy: Evolution and Adaptation, Second Edition, John Wiley & Sons.
- Buxhoeveden, D. & Casanova, M. (2005). Encephalization, minicolumns, and hominid evolution. En: Casanova MF, editor. *Neocortical modularity and the cell minicolumn*. (pp 117–136), New York, Nova Science Publishers, Inc.
- Caillard, O., Moreno, H., Schwaller, B., Llano, I., Celio, M. R., & Marty, a. (2000). Role of the calcium-binding protein parvalbumin in short-term synaptic plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(24), 13372–7. doi:10.1073/pnas.230362997
- Campbell, A.W. (1905). “*Histological Studies on the Localization of Cerebral Function*.” Cambridge Univ. Press, London, New York.
- Carmichael, S. T. and Price, J. L. (1995). Limbic connections of the orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys . *J. Comp. Neurol.* 363 , 615 – 641 .
- Casanova J. (2007) *Neurología de la conducta y neuropsicología*. Buenos Aires: Panamericana
- Casanova, M. & Tillquist, C. (2008). Encephalization, Emergent Properties, and Psychiatry: A Minicolumnar Perspectiv3. *The Neuroscientist*, 14(1):101– 118.
- Casanova, M., Buxhoeveden, D., Cohen, M., Switala, A. & Roy, E. (2002) Minicolumnar pathology in dyslexia. *Annals Neurology*, 52, 108–110.
- Cauda, F., Torta, D. M. E., Sacco, K., D’Agata, F., Geda, E., Duca, S., Geminiani, G., et al. (2012). Functional anatomy of cortical areas characterized by Von Economo neurons. *Brain structure & function*. doi:10.1007/s00429-012-0382-9
- Celio, M. (1986). Parvalbumin in most gamma-aminobutyric acid-containing neurons of the rat cerebral cortex. *Science* (4741):995-7.
- Celio, M. R. and Heizmann, C. W., (1981) Calcium-binding protein parvalbumin as a neuronal marker. *Nature*. 293: 300–302.

- Ciaramelli E., Muccioli M., Làdavas E., di Pellegrino G (2007) Selective deficit in personal moral judgment following damage to ventromedial prefrontal cortex *Soc Cogn Affect Neurosci* 2 (2): 84-92. doi: 10.1093/scan/nsm001
- Clark , L. and Manes , F. (2004). Social and emotional decision-making following frontal lobe injury. *Neurocase*. 10, 398 – 403.
- Cotter , D. , Hudson , L. , and Landau , S. (2005). Evidence for orbitofrontal pathology in bipolar disorder and major depression, but not in schizophrenia. *Bipolar Disord*. 7, 358 – 369
- Crosby, E. C. 1917. The forebrain of Alligator mississippiensis. *J. Compo Neuro* 27: 325-402.
- Cummings , J. L. (1985). Frontotemporal atrophy associated with paranoid delusions in women with Alzheimer's disease *International Psychogeriatrics* Volume 24 / 01 99-107
- da Costa NM. (2012) The diversity of thalamorecipient spine morphology in cat visual cortex and its implication for synaptic plasticity. *J Comp Neurol*. doi: 10.1002/cne.23272. en impresión.
- Damasio , H. , Grabowski , T. , Frank , R. , Galaburda , A. M. , and Damasio , A. R. (1994). The return of Phineas Gage: clues about the brain from the skull of a famous patient. *Science* 264 , 1102 – 1105.
- Damasio , H. , Grabowski , T. , Tranel , D. , Hichwa , R. D. , and Damasio , A. R. (1996). A neural basis for lexical retrieval. *Nature* 380, 499 – 505
- Dart. R. A. 1934. The dual structure of the neopallium: its history and significance. *J. AnaL*. 69;3-19.
- DeFelipe, J. & Farinas, I. (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog. Neurobiol*. 39, 563–607
- DeFelipe, J. (1993). Neocortical neuronal diversity: chemical heterogeneity revealed by co-localization studies of classic neurotransmitters, neuropeptides, calcium-binding proteins, and cell surface molecules. *Cereb. Cortex* 3, 273–289
- DeFelipe, J. (1997). Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in the neocortex. *J. Chem. Neuroanat*. 14, 1–19
- DeFelipe, J. (1999). Chandelier cells and epilepsy. *Brain : A Journal Of Neurology*, 122 (Pt 1, 1807–22.
- DeFelipe, J. (2002) Cortical interneurons: from Cajal to 2001. *Prog. Brain Res*. 136, 215–238

- Dombrowski, S.M.; Hilgetag, C.C. & Barbas, H. (2001) Quantitative architecture distinguishes prefrontal cortical systems in the rhesus monkey. *Cerebral Cortex*, 11, 975 – 988
- Eggerman E& Jonas P. (2012) How the 'slow' Ca²⁺ buffer parvalbumin affects transmitter release in nanodomain-coupling regimes *Nature Neuroscience* 15, 20–22 doi:10.1038/nn.3002
- Eggermann, E., & Jonas, P. (2012). How the “slow” Ca²⁺ buffer parvalbumin affects transmitter release in nanodomain-coupling regimes. *Nature neuroscience*, 15(1), 20–2. doi:10.1038/nn.3002
- Elias, H., and Schwartz, D. (1969). Surface areas of the cerebral cortex of mammals determined by stereological methods. *Science* 166, 1011–1013.
- Escobar M. & Pimienta H. (2003) *El Sistema Nervioso*. Cali: Ed Universidad del Valle.
- Fajardo C, Escobar MI, Buritica E, Arteaga G, Umbarila J, Casanova M & Pimienta H (2008) von Economo neurons are present in the dorsolateral (dysgranular) prefrontal cortex of humans. *Neurosci Lett*; 435:215–218.
- Feldman, M. L. & Peters, A. (1978) The forms of non-pyramidal neurons in the visual cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 179, 761–793
- Flechsig, P. (1920). “*Anatomie des menschlichen Gehirns und Rückenmarks auf myelogenetischer Grundlage.*” Thieme, Leipzig.
- Fuster J. M. (2003). *Cortex and Mind: Unifying Cognition*. New York, NY: Oxford University Press .
- Galarreta, M., & Hestrin, S. (2002). Electrical and chemical synapses among parvalbumin fast-spiking GABAergic interneurons in adult mouse neocortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(19), 12438–43. doi:10.1073/pnas.192159599
- Garcia-Marin V, Ahmed T, Afzal Y, Hawken M(2013) Distribution of vesicular glutamate transporter 2 (VGluT2) in the primary visual cortex of the macaque and human. *The Journal of comparative neurology* 521 (1) p. 130-51
- Gustin, R. M., Bichell, T. J., Bubser, M., Daily, J., Filonova, I., Mrelashvili, D., Deutch, A. Y., et al. (2010). Tissue-specific variation of Ube3a protein expression in rodents and in a mouse model of Angelman syndrome. *Neurobiology of disease*, 39(3), 283–91. doi:10.1016/j.nbd.2010.04.012
- Haber , S. N. , Kunishio , K. , Mizobuchi , M. , and Lynd- Balta , E. (1995). The orbital and medial prefrontal circuit through the primate basal ganglia. *J. Neurosci.* 15 , 4851 – 4867

- Heizmann, C. W. & Celio, M. R., (1987) Immunolocalization of parvalbumin. *Meth Enzymol* 139: 552–570
- Henrotte, J. G. (1952) A crystalline constituent from myogen of carp muscles. *Nature* 169, 968–969
- Hof, P. R., Glezer, I. I., Condé, F., Flagg, R. a, Rubin, M. B., Nimchinsky, E. a, & Vogt Weisenhorn, D. M. (1999). Cellular distribution of the calcium-binding proteins parvalbumin, calbindin, and calretinin in the neocortex of mammals: phylogenetic and developmental patterns. *Journal of chemical neuroanatomy*, 16(2), 77–116.
- Hubel, D. & Wiesel, T, (1977). Functional architecture of macaque visual cortex. *Proc R Soc London B Biology Science*. 198, 1–59.
- Hubel, D. & Wiesel, T. (1963). Shape and arrangement of columns in the cat's striate cortex. *Journal Neurophysiology* 165, 559-568
- Hugdahl K, Davidson R (2002) *The Asymmetrical Brain*. New York. The MIT Press
- Inda MC, DeFelipe J, Munoz A. (2006) Voltage-gated ion channels in the axon initial segment of human cortical pyramidal cells and their relationship with chandelier cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:2920-2925.
- Insausti R, Muñoz M (2001) Cortical projections of the non entorhinal hippocampal formation in the cynomolgus monkey *Eur Jour Neuros*. 14: 435- 51
- J. Smith, V. Smith, Philbrick & Kumar (2012) Catatonic Disorder Due to a General Medical or Psychiatric Condition *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 24:198-207 DOI: 10.1176/appi.neuropsych.11060120
- Johnston, I. B. (1915) The cell masses in the forebrain of the turtle, *Cistudo carolina*. *J. Compo Neurol* 25 :393-468.
- Jones , E. G. , Coulter , J. D. , and Wise , S. P. (1979). Commissural columns in the sensory-motor cortex of monkeys . *J. Comp. Neurol*. 188 , 113 – 136
- Jones, E. G. (1984) in *Cellular Components of the Cerebral Cortex*. eds Peters, A. & Jones, E. G.) 521–554 Plenum, New York,
- Khundakar, A., Morris, C., & Thomas, A. J. (2011). The immunohistochemical examination of GABAergic interneuron markers in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with late-life depression. *International Psychogeriatrics*, 23(04), 644–653
- Kondo H, Saleem KS, and Price JL. (2005) Differential connections of the perirhinal and parahippocampal cortex with the orbital and medial prefrontal networks in rhesus monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, 493(4): 479e509,

- Konosu, S. Hamoir, M & . Pechère (1965) Carp myogens of white and red muscles. Properties and amino acid composition of the main low-molecular-weight components of white muscle *Biochem J*; 96(1): 98–112.
- Leon M, Shalden M (2003) representation of time by neurons in the posterior parietal cortex of the macaque. *Neuron* 38:: 317-327
- Lewis, D. a, Curley, A. a, Glausier, J. R., & Volk, D. W. (2012). Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends in neurosciences*, 35(1), 57–67. doi:10.1016/j.tins.2011.10.004
- Lewis, D. a, Hashimoto, T., & Volk, D. W. (2005). Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature reviews. Neuroscience*, 6(4), 312–24. doi:10.1038/nrn1648
- Lhermitte, F. , Pillon, B. , and Serdaru, M. (1986). Human autonomy and the frontal lobes. Part I: Imitation and utilization behavior: a neuropsychological study of 75 patients. *Ann. Neurol.* 19, 326 – 334 .
- Lorente de Nó, R. (1938). Cerebral cortex, architecture, intracortical connections, motor programs. En: Fulton J., editor. *Physiology of the Nervous System*. New York: Oxford University Press. 1938, 274–301.
- Luppino G, Rozzi S, Calzavara R, and Matelli M. (2003) Prefrontal and agranular cingulate projections to the dorsal premotor areas F2 and F7 in the macaque monkey. *European Journal of Neuroscience*, 17(3): 559e578,
- MacLean, P. D. (1990) *The Triune Brain in Evolution*. New York: Plenum.
- Mańko M, Bienvenu TC, Dalezios Y, Capogna M. (2012) Neurogliaform cells of amygdala: a source of slow phasic inhibition in the basolateral complex. *J Physiol*; 590 (Pt 22):5611-27
- Marín-Padilla M. (1999) Desarrollo de la corteza cerebral humana. Teoría citoarquitectónica *Rev Neurol* 29 (3): 208-216
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., & Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature reviews. Neuroscience*, 5(10), 793–807. doi:10.1038/nrn1519
- Massi, L., Lagler, M., Hartwich, K., Borhegyi, Z., Somogyi, P., & Klausberger, T. (2012). Temporal dynamics of parvalbumin-expressing axo-axonic and basket cells in the rat medial prefrontal cortex in vivo. *The Journal of neuroscience* , 32(46), 16496–502. doi:10.1523
- Meyer G., Goffinet A. & Fairen A. (1999) What is a cajal Retzius cell? A reassessment of a classical cell type based on recent observations in the developing neocortex. *Cerebral cortex*. 9 765 -776

- Milner , B. (1964). Some effects of frontal lobectomy in man. In: J. M. Warren and K. Akert (eds) , *The Frontal Granular Cortex and Behavior* . New York, NY: McGraw-Hill , pp. 313 – 334
- Montañés P. & De Bigard F. (2005) *Neuropsicología Clínica Y Cognositiva*. Bogota. Ed Universidad Nacional de Colombia
- Morris R. Pandya D, Petrides M (1999) fiber system linking the mid dorsolateral prefrontal cortex whit the retrosplenial/presubicular region in the rhesus monkey *J, compa Neurol* 407: 183-92
- Mountcastle, V. (1957). Modality and topographic properties of single neurons in cat's somatic sensory cortex. *Journal Neurophysiology*. 20, 408–434.
- Mountcastle, V. (1997). The columnar organization of the neocortex. *Brain, Review Article*, 120, 701-722
- Mountcastle, V. (2003). Minicolumns. *Cerebral Cortex*, 13:2-4
- Murray E Izquierdo A (2007) orbitofrontal cortex and amygdala contributions to affect and action in primates. *ann NY acad Sci* 1121: 237-96
- Murray E, Wise S., & Rhodes S (2011) *What Can different brains do with reward? En The neurobiology of sensation and reward*, ed J Gottfried p 57-92 Boca Ratón: TAYLOR
- Nauta , W. J. H. (1972). Neural associations of the frontal cortex . *Acta Neurobiol. Exp.* 32, 125 – 140 .
- Newman , J. D. and Lindsley , D. F. (1976). Single unit analysis of auditory processing in squirrel monkey frontal cortex. *Exp. Brain Res.* 25 , 169 – 181 .
- Nimchinsky, E. Gilissen, J.M. Allman, D.P. Perl, J.M. Erwin, P.R. Hof, (1999) A neuronal morphologic type unique to humans and great apes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 5268–5273.
- Pandya DN, Seltzer B. (1988) Input-output organization of the primate cerebral cortex. *Comparative Primate Biology*; 4:39-80.
- Pandya, D. N. and Yeterian, E. H. (1996). Comparison of prefrontal architecture and connections. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B Biol Sci.* 351 , 1423 – 1432 .
- Peters, A. The axon terminals of vasoactive intestinal polypeptide (VIP)-containing bipolar cells in rat visual cortex. *J. Neurocytol.* 19, 672–685 (1990).

- Petrides M, Pandya DN (1999). Dorsolateral Prefrontal Cortex: Comparative Cytoarchitectonic Analysis in the Human and the Macaque Brain and Corticocortical Connections Patterns. *European Journal of Neuroscience*, 11: 1011-1036
- Petrides M. & Pandya D. (2009) Distinct Parietal and Temporal Pathways to the Homologues of Broca's Area in the Monkey *PLoS Biol*
- Petrides, M. & Pandya, D. N. (2002) Association pathways of the prefrontal cortex and functional observations. En: D. T. Stuss and R. T. Knight (eds), *Principles of Frontal Lobe Function* . New York, NY: Oxford University Press, pp. 31 – 84.
- Pimienta H. (2004) La corteza cerebral. Más allá de la corteza. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, vol. XXXIII, núm. 1, 58-75
- Rakic, P. (2003) Developmental and evolutionary adaptations of cortical radial glia. *Cerebral Cortex* 13:541-549.
- Ray , J. P. and Price , J. L. (1993). The organization of projections from the mediodorsal nucleus of the thalamus to orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.* 337, 1 – 31.
- Roth JJ, Roth EC, MacLean PD, Hotton N (eds): *The Ecology and Biology of Mammal-like Reptiles*. Washington, DC, Smithsonian Institution Press, in press.
- Sanides F (1970) Functional architecture of motor and sensory cortices in primates in the light of a new concept of neocortex evolution. In: *The primate brain: advances in primatology* (Noback CR, Montagna W, eds), pp. 137–208. New York: Appleton- Century-Crofts
- Schwaller B. (2010) Cytosolic Ca2 Buffers Cold Spring *Harb Perspect Biol*; 2: a004051 doi: 10.1101/cshperspect.a004051
- Schwaller B. (2009) The continuing disappearance of “pure” Ca2+ buffers *Cellular And Molecular Life Sciences* Volume 66, Number 2, 275-300, DOI: 10.1007/s00018-008-8564-6
- Schwaller, B., Tetko, I. V., Tandon, P., Silveira, D. C., Vreugdenhil, M. et al. (2004) Parvalbumin deficiency affects network properties resulting in increased susceptibility to epileptic seizures. *Mol Cell Neurosci.* 25: 650–663.
- Seeley W,Carlin D., Allman, J., Macedo, M., Bush C., Miller B. & DeArmond, S. (2006) Early frontotemporal dementia targets neurons unique to apes and humans. *Annals of Neurology.* 60, 6, 660–667
- Semendeferi , K. , Armstrong , E. , Schleicher , A. , Zilles , K. , and Van Hoesen , G. W. (2001). Prefrontal cortex in humans and apes: a comparative study of area 10. *Am. J. Phys. Anthropol.* 114, 224 – 241

- Shaw , P. , Bramham , J. , Lawrence , E. J. , Morris , R. , Baron-Cohen , S. , and David , A. S. (2005). Differential effects of lesions of the amygdala and prefrontal cortex on recognizing facial expressions of complex emotions . *J. Cogn. Neurosci.* 17, 1410 – 1419.
- Sisó, S., González, L., Blanco, R., Chianini, F., Reid, H. W., Jeffrey, M., & Ferrer, I. (2011). Neuropathological changes correlate temporally but not spatially with selected neuromodulatory responses in natural scrapie. *Neuropathology and applied neurobiology*, 37(5), 484–99. doi:10.1111/j.1365-2990.2010.01152.x
- Smith, G. Elliot. 1907. New studies on the folding of the visual cortex and the significance of the occipital sulci in the human brain. *J. Anat.*, 41:198-207.
- Smith, G.E. (1907). A new topographical survey of the human cerebral cortex, being an account of the distribution of the anatomically distinct cortical areas and their relationship to the cerebral sulci. *J. Anat.* 41, 237–254.
- Sohal, V. S., Zhang, F., Yizhar, O., & Deisseroth, K. (2009). Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, 459(7247), 698–702. doi:10.1038/nature07991
- Stone , V. E. , Baron-Cohen , S. , and Knight , R. T. (1998). Frontal lobe contributions to theory of mind. *J. Cogn. Neurosci*, 10, 640 – 656
- Stuphorn , V. , Taylor , T. L. , and Schall , J. D. (2000). Performance monitoring by the supplementary eye field . *Nature* 408 , 857 – 860 .
- Stuss DT, et al. (2000) Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with focal frontal and posterior brain damage: Effects of lesion location and test structure on separable cognitive processes. *Neuropsychologia* 38:388–402.
- Takano, T. (2012). Altered distribution of inhibitory interneurons in polymicrogyria. *Epilepsy research*, 102(1-2), 113–6. doi:10.1016/j.eplesyres.2012.05.001
- Toga AW & Thomson PM (2003). Mapping Brain Asymmetry. *Nature Reviews Neuroscience*. 4: 37 – 48.
- Umbarila, J. (2006) *Organización del área 10p orbital de la corteza cerebral del humano: citoarquitectura y asimetrías*. Tesis de Maestría no publicada, Centro de Estudios Cerebrales, Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle
- Ungerleider, L.G., and Haxby, J.V. (1994). “What” and “where” in the human brain. *Curr. Opin. Neurobiol.* 4, 157–165.
- Valverde, F (2002) Estructura de la Corteza Cerebral. Organización intrínseca y análisis comparativo del neocortex. *Revista de neurología*, 34 (8), 758-780

- Van Noordt y Segalowitz (2012) Performance monitoring and the medial prefrontal cortex: a review of individual differences and context effects as a window on self-regulation *Front Hum Neurosci.*; 6: 197 DOI: 10.3389
- Vann S, Aggleton J, Maguire E 2009 what does the retrosplenial cortex do? *Net reviews neusci* 10: 792 802
- Voightländer, T., Unterberger, U., Guentchev, M., Schwaller, B., Celio, M. R., Meyer, M., & Budka, H. (2008). The role of parvalbumin and calbindin D28k in experimental scrapie. *Neuropathology and applied neurobiology*, 34(4), 435–45. doi:10.1111/j.1365-2990.2007.00902.x
- von Economo, C., and Koskinas, G. N. (1925). “*Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen.*” Springer-Verlag, Berlin.
- Walton M, Croxson P, Behers T, Kennerley S, Rudebeck K, Rushworth M (2007) Adaptive decision making and value in the anterior cingulate cortex. *Neuroimage* 36: 142-54
- Wang Y Isoda M Matsuzaka Y Shoma k Tanji (2005) prefrontal cortical cells, projecting to the supplementary eye field and presupplementary motor area in the monkey *Neurosci Res* 53: 1-7
- Wang Y, Shima K, Osoda M Sawamura H, Tanji J (2002) spatial distribution and density of prefrontal cortical cells projecting to tree sectors of the premotor cortex *neuroreport* 13: 1314-4
- Wang, Y., Gupta, A., Toledo-Rodriguez, M., Wu, C. Z. & Markram, H. (2002). Anatomical, physiological, molecular and circuit properties of nest basket cells in the developing somatosensory cortex. *Cereb. Cortex* 12, 395–410
- Wang, Y., Gupta, A., Toledo-Rodriguez, M., Wu, C. Z. & Markram, H. (2002) Anatomical, physiological, molecular and circuit properties of nest basket cells in the developing somatosensory cortex. *Cereb. Cortex* 12, 395–410.
- Whiteheada Tunnarda Hurta L. O. Wahlunda, P. Mecoccia, M. Tsolakia, B. Vellasa, C. Spengera, I. Kłoszewskaa, H. Soininena, D. Cromba, S. Lovestonea y A. Simmons (2012) Frontotemporal atrophy associated with paranoid delusions in women with Alzheimer's disease. *International Psychogeriatrics* Volume 24 / 01 99-107
- Woolsey , C. N. (1959). Some observations on brain fissuration in relation to cortical localization of function. In: D. B. Tower and J. P. Shade (eds), *Structure and Function of the Cerebral Cortex* . Amsterdam : Elsevier , pp. 64 – 68.
- Yáñez, I. B., Muñoz, A., Contreras, J., Gonzalez, J., Rodriguez-Veiga, E., & DeFelipe, J. (2005). Double bouquet cell in the human cerebral cortex and a comparison with other mammals. *The Journal of comparative neurology*, 486(4), 344–60. doi:10.1002/cne.20533

- Yates, D. (2012). Neuroanatomy: Revising the phylogeny of von Economo neurons. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(7), 448–448. doi:10.1038/nrn3279
- Yeterian, E. H., Pandya, D. N., Tomaiuolo, F., & Petrides, M. (2012). The cortical connectivity of the prefrontal cortex in the monkey brain. *Cortex; a journal devoted to the study of the nervous system and behavior*, 48(1), 58–81. doi:10.1016/j.cortex.2011.03.004
- Zhou X, Katsuki F, Qi XL, Constantinidis C. (2012) Neurons with inverted tuning during the delay periods of working memory tasks in the dorsal prefrontal and posterior parietal cortex. *J Neurophysiol*; 108(1):31-8.
- Zilles (2004) Architecture of the Human Cerebral Cortex. En Paxinos Ed. *Human nervous system*. Pp 997-1058
- Zilles, K., Armstrong, E., Schleicher, A., and Kretschmann, H.-J. (1988). The human pattern of gyrification in the cerebral cortex. *Anat. Emryol.* 179, 173–179.